

**KONTROLLE DER ABSTOBUNGSREAKTIONEN EXPERIMENTELLER,
ALLOGENER LEBERTRANSPLANTATE MIT HILFE DER
FEINNADEL - ASPIRATIONS - ZYTOLOGIE**

THOMAS SIEGEL

1986

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. W. Brendel

**KONTROLLE DER ABSTOßUNGSREAKTIONEN EXPERIMENTELLER,
ALLOGENER LEBERTRANSPLANTATE MIT HILFE DER
FEINNADEL - ASPIRATIONS - ZYTOLOGIE**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Thomas Siegel
aus Fürstenfeldbruck

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. C. Hammer

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. W. Brendel

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.10.1986

LEBENS- UND KAMPFES-GEHÄRTETEN KRIEGSKRIEGERN

- 1. KRIEGSKRIEGER
- 2. KRIEGSKRIEGER
- 3. KRIEGSKRIEGER
- 4. KRIEGSKRIEGER
- 5. KRIEGSKRIEGER
- 6. KRIEGSKRIEGER
- 7. KRIEGSKRIEGER
- 8. KRIEGSKRIEGER
- 9. KRIEGSKRIEGER
- 10. KRIEGSKRIEGER
- 11. KRIEGSKRIEGER
- 12. KRIEGSKRIEGER
- 13. KRIEGSKRIEGER
- 14. KRIEGSKRIEGER
- 15. KRIEGSKRIEGER
- 16. KRIEGSKRIEGER
- 17. KRIEGSKRIEGER
- 18. KRIEGSKRIEGER
- 19. KRIEGSKRIEGER
- 20. KRIEGSKRIEGER
- 21. KRIEGSKRIEGER
- 22. KRIEGSKRIEGER
- 23. KRIEGSKRIEGER
- 24. KRIEGSKRIEGER
- 25. KRIEGSKRIEGER
- 26. KRIEGSKRIEGER
- 27. KRIEGSKRIEGER
- 28. KRIEGSKRIEGER
- 29. KRIEGSKRIEGER
- 30. KRIEGSKRIEGER
- 31. KRIEGSKRIEGER
- 32. KRIEGSKRIEGER
- 33. KRIEGSKRIEGER
- 34. KRIEGSKRIEGER
- 35. KRIEGSKRIEGER
- 36. KRIEGSKRIEGER
- 37. KRIEGSKRIEGER
- 38. KRIEGSKRIEGER
- 39. KRIEGSKRIEGER
- 40. KRIEGSKRIEGER
- 41. KRIEGSKRIEGER
- 42. KRIEGSKRIEGER
- 43. KRIEGSKRIEGER
- 44. KRIEGSKRIEGER
- 45. KRIEGSKRIEGER
- 46. KRIEGSKRIEGER
- 47. KRIEGSKRIEGER
- 48. KRIEGSKRIEGER
- 49. KRIEGSKRIEGER
- 50. KRIEGSKRIEGER
- 51. KRIEGSKRIEGER
- 52. KRIEGSKRIEGER
- 53. KRIEGSKRIEGER
- 54. KRIEGSKRIEGER
- 55. KRIEGSKRIEGER
- 56. KRIEGSKRIEGER
- 57. KRIEGSKRIEGER
- 58. KRIEGSKRIEGER
- 59. KRIEGSKRIEGER
- 60. KRIEGSKRIEGER
- 61. KRIEGSKRIEGER
- 62. KRIEGSKRIEGER
- 63. KRIEGSKRIEGER
- 64. KRIEGSKRIEGER
- 65. KRIEGSKRIEGER
- 66. KRIEGSKRIEGER
- 67. KRIEGSKRIEGER
- 68. KRIEGSKRIEGER
- 69. KRIEGSKRIEGER
- 70. KRIEGSKRIEGER
- 71. KRIEGSKRIEGER
- 72. KRIEGSKRIEGER
- 73. KRIEGSKRIEGER
- 74. KRIEGSKRIEGER
- 75. KRIEGSKRIEGER
- 76. KRIEGSKRIEGER
- 77. KRIEGSKRIEGER
- 78. KRIEGSKRIEGER
- 79. KRIEGSKRIEGER
- 80. KRIEGSKRIEGER
- 81. KRIEGSKRIEGER
- 82. KRIEGSKRIEGER
- 83. KRIEGSKRIEGER
- 84. KRIEGSKRIEGER
- 85. KRIEGSKRIEGER
- 86. KRIEGSKRIEGER
- 87. KRIEGSKRIEGER
- 88. KRIEGSKRIEGER
- 89. KRIEGSKRIEGER
- 90. KRIEGSKRIEGER
- 91. KRIEGSKRIEGER
- 92. KRIEGSKRIEGER
- 93. KRIEGSKRIEGER
- 94. KRIEGSKRIEGER
- 95. KRIEGSKRIEGER
- 96. KRIEGSKRIEGER
- 97. KRIEGSKRIEGER
- 98. KRIEGSKRIEGER
- 99. KRIEGSKRIEGER
- 100. KRIEGSKRIEGER

MEINEM LIEBEN VATER
IN DANK GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554815_0113

LISTE DER ABKÜRZUNGEN EINIGER FACHAUSDRÜCKE

A	Arterie
allogen	Genetisch differenter Spender derselben Spezies
AP	Alkalische Phosphatase
AR	Abstoßungsreaktion
BN	Brown Norway Ratten
C	Celsius
cm	Centimeter
Ci/CSA	Ciclosporin
CT	Cytotoxische T-Zellen
DA	Dark-agouti-Ratten
EO	Eosinophile Granulozyten
FNB	Fein-Nadel-Biopsie
gr	Gramm
Gr	Gruppe
GvHR	Graft versus-Host-Reaktion
H-antigen	Histokompatibilitäts Antigen
HLA	Human-Leucocyten-Antigen
Ia-antigen	I-region-associated (I-Zonen abhänges Antigen)
IE	Internationale Einheit
IR	Immunresponder-Gen
isogen	genetisch identischer Spender derselben Spezies (Inzuchtstamm)
i.v.	Intravenös
Ku.	Kurve
kg/Kg	Kilogramm/Körpergewicht
LD	Leukozyten/determiniert (Class-II-Antigene)
Ly	Lymphozyten
MIF	Migrations Inhibitions Faktor
MHC	Major Histocompatibility-Complex
ul	Mikroliter
ml	Milliliter

MLR	Mixed-Lymphocyte/Reaction
mm	Millimeter
MO	Makrophagen
MO	Monozyten
Nr	Nummer
PE	Probeentnahme
PPF	Plasmaproteinfraction
p.T.	post Transplantation
Q-Gen	Quantity gene
R-Gen	Recognition Gene
RT-Ly	Rat Lymphocyte Antigen
RT1	Rat Lymphocyte Antigen Locus I
6	Standardabweichung
SD	Serologisch determiniert
Seg	Segmentkernige Granulozyten
	Class-I-antigen
Std	Stunde
Tabl.	Tabelle
V	Vena
U/min	Umdrehung/Minute
X	Mittelwert

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Methodik	3
2.1 Versuchsanordnung	3
2.1.1 Vorversuche	3
2.1.2 Gruppeneinteilung	3
2.1.3 Biopsiemodus	4
2.2 Versuchstiere	5
2.2.1 Haltung	5
2.2.2 MHC und Immunologie	5
2.3. Technik der Lebertransplantation an Ratten	7
2.3.1 Narkose und Technik	7
2.3.2 Medikation	9
2.3.3 Postoperative Behandlung	9
2.4 Feinnadelbiopsie	10
2.4.1 Technik	10
2.4.2 Auswertung	11
2.4.2.1 Verarbeitung	11
2.4.2.2 Bewertung	11
2.4.2.3 Auszählung	11
2.4.2.4 Inkrement	11
2.4.2.5 Tabellen, Kurven, Statistik	12
2.5 Knips- und Stanzbiopsie	12
2.5.1 Offene Biopsie	12
2.6 Ciclosporin	13
3. Ergebnisse	14
3.1 Komplikationen der Operation	14
3.2 Überlebenszeiten	14
3.3 Gewichtsverlauf	16
3.4 Biopsieergebnisse	19
3.4.1 Definition der Cytologie und Blutbilder	19

	Seite
3.4.2.1	Biopsieergebnisse der Kontrollgruppe 20
3.4.2.2	Biopsie der isogen transplantierten Ratten 26
3.4.2.3	Biopsie der unbehandelten allogen transplantierten Ratten 34
3.4.2.4	Biopsieergebnis der allogen transplantierten Ratten unter Ciclosporin-Behandlung 40
3.5	Statistik 45
3.6	Komplikationen der Narkose und Feinnadel-Biopsie 48
4.	Diskussion 49
4.1	Grundlagen des Experimentes 49
4.1.1	Operationstechnische Probleme 49
4.1.2	Immunologie der Ratte 51
4.1.2.1	Immunologische Besonderheiten 56
4.1.2.2	Immunsuppression 56
4.1.2.3	Wirkung von Ciclosporin 57
4.1.3	Feinnadel-Biopsie 59
4.1.3.1	Methodische Probleme 59
4.1.3.2	Komplikationen 60
4.2.	Interpretation der Biopsie 60
4.2.1	Nicht transplantierte BN-Ratten 62
4.2.2	Isogen transplantierte Ratten 64
4.2.3	Unbehandelte allogen transplantierte Ratten 64
4.2.4	Immunsuppressiv behandelte allogen transplantierte Ratten 67
4.3	Vergleich von Stanzbiopsie und FNB 72
4.4	Offene Fragen 73
5.	Zusammenfassung 75
6.	Literaturverzeichnis 77
	Anhang

1. EINLEITUNG

Lebertransplantationen können theoretisch bei jeder Lebererkrankung, die zum Leberversagen führt, indiziert sein. Vier Hauptindikationsgebiete kommen für die Lebertransplantation in Betracht. Leberzirrhose, intrahepatische Gallengangatresie und maligne Lebertumore. Derzeit werden in Deutschland ca. 40 Lebertransplantationen jährlich durchgeführt. Die bisher nicht befriedigenden Langzeitergebnisse einer Lebertransplantation schränken jedoch die Indikation wesentlich ein.

Die erste erfolgreiche, orthotrope Lebertransplantation an einer Ratte wurde von Lee et al. 1973 beschrieben. Hauptkomplikation der experimentellen, wie der klinischen Lebertransplantation stellt die Gallenabflußstörung dar. Sie führt zu Funktionseinschränkungen, die oft schwer zu differenzieren und nicht eindeutig einer bestimmten Ursache zuzuordnen sind. Durch neuentwickelte Techniken bei der Gallengangrekonstruktion (Zimmermann et al. 1979) konnten solche Schwierigkeiten ausgeschlossen werden. Damit steht ein Tiermodell zur Verfügung, mit dessen Hilfe versucht werden kann, morphologische Veränderungen im Lebertransplantat zu beschreiben, die ausschließlich auf Abstoßungsreaktionen zurückzuführen sind.

Bisher wurden 3 verschiedene Abstoßungsmuster gefunden - akute, chronische und subakute. Akute und chronische Verläufe können mit zeitlich begrenzter Gabe von Ciclosporin verhindert werden (Zimmermann). Dieses Medikament führt in Zusammenarbeit mit herkömmlichen, immunsuppressiven Therapien zu einer besseren Transplantattoleranz und höheren Überlebenszeiten. Typische Erkennungsmerkmale für die Abstoßung sind noch unzureichend und morphologische Zeichen selten (Calne 1981). Um hier weitere Vergleiche anzustellen, dienen Ratten als Versuchstiere. Sie sind leicht züchtbar und ihre Stämme sind genetisch determiniert. In diesem Experiment

wurden Rattenkombinationen mit einer genetischen Differenz, die zu starken Abstoßungsreaktionen führt, ausgewählt. Abstoßungen konnten bisher nur durch Stanzbiopsie, Serologie und Differentialblutbild kontrolliert werden. Die Komplikationsrate der Stanzbiopsie ist hoch und schränkt die Indikationsbreite ein. Da häufige Punktionen in kurzen Abständen nicht möglich sind, bietet sich die Aspirationszytologie als neue Methode bei Lebertransplantationen an. Klinisch wird sie bereits zur Überwachung der Organabstoßung bei Nierentransplantationen eingesetzt.

Ziel des Experimentes: Durch die Feinnadelbiopsie verwertbares Material zu gewinnen, Komplikation und Verträglichkeit festzustellen, Aussagekraft und Verlauf der Zytologie bei Lebertransplantationen herauszufinden, sie mit herkömmlichen Methoden zu vergleichen und ihre Wiederholbarkeit festzustellen.

2. METHODIK

2.1. VERSUCHSANORDNUNG:

2.1.1 Vorversuch

Die Validität der FNB nach Ratten-Leber-Transplantation wurde zuerst an nicht transplantierten Ratten erprobt. In Vorversuchen wurden günstige Nadelstärke, Vacuumspritzen, Lagerung und Punktionsstelle, sowie Winkel beim Einstich ins Gewebe und die Eindringtiefe erprobt. Ferner sollte festgestellt werden, ob das gewonnene Material verwertbar ist und welche Reaktionen Versuchstiere auf die Punktion zeigen.

2.1.2 Gruppeneinteilung:

Die Tiere (K=24) wurden in folgende Gruppen unterteilt:

Gruppe 0: Nicht-transplantierte BN-Ratten:

(K=4) Anhand des Gewichtsverlaufs über 63 Tage wurde die Reaktion auf die Äthernarkose kontrolliert. Die Gewichtskontrollen fanden bis zum 10. Tage täglich, bis zum 20. Tag 2-tägig, anschließend wöchentlich statt. Das Ausgangsgewicht betrug 150 gr.±

Gruppe I: Nicht-transplantierte BN-Ratten: Kontrolle für die Feinnadelbiopsie. In 63 Tagen wurden 4 Ratten 18 x punktiert. Gleichzeitig fanden Gewichtskontrollen und Blutabnahmen statt. Bis zum 9. Tage wurde täglich punktiert, bis zum 21. Tage 2-tägig, ab dann 2 x wöchentlich.

Gruppe II: Isogen-transplantierte BN-Ratten: Leberspender und (K=5) -empfänger gehörten demselben Stamm an. Die Tiere wurden in 60 Tagen 17 x punktiert mit gleichzeitiger Gewichtskontrolle und Blutabnahme. Diese fanden bis zum 9. Tag täglich, bis zum 21. Tage in 2-3 täglichen Abständen, danach nur mehr 1 x pro Woche statt.

Gruppe III: Allogen-transplantierte Ratten (DA/BN) ohne (K=5) Therapie. DA-Ratten waren Spender, BN-Ratten Empfänger.
Insgesamt wurde in dieser Gruppe in 13 Tagen 3-5 x punktiert und 3 x biopsiert. Die Intervalle betrugen 3 Tage.
Gleichzeitig wurden ebenfalls Gewichtskontrollen und Blutabnahmen vorgenommen.

Gruppe IV: Allogen-transplantierte Ratten (DA/BN) unter (K=6) Ciclosporin. Diese 6 Tiere wurden in 30 Tagen ca. 8 x punktiert, bis zum 21. Tage p.T. in 3-tägigen Abständen, danach alle 10 Tage.
Ein Tier davon erhielt eine Intervalltherapie.

2.1.3 Biopsiemodus (FNB)

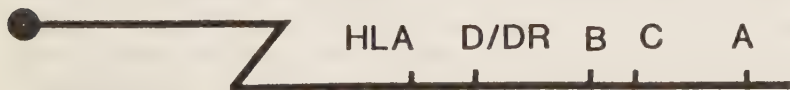
Die Fein-Nadel-Biopsie wurde in 1-3 täglichen Abständen durchgeführt. Ab dem 21. Tag erfolgte diese in wöchentlichen Abständen. Punktiert wurde teils percutan, teils unter Sicht nach Laparatomie. Nur die allogen transplantierten Ratten wurden für eine Leber-Knips-Biopsie jeden 6. Tag laparotomiert. Diese überschneit sich mit den 1-3 täglichen Zeitintervall der FNB.

2.2 VERSUCHSTIERE:

2.2.1 Haltung

Als Versuchstiere wurden weibliche und männliche Ratten der Zuchtstämme BN und DA verwendet. Die BN-Tiere dienten als Empfänger, die DA-Tiere als Spender. Transplantiert wurden nur Tiere, die das Mindestgewicht von 190 gr erreicht hatten und gleich schwer waren. Zur Ernährung wurde Trockenfutter und Wasser ad libidum geboten.

2.2.2 MHC und Immunologie



Genkarte des HLA-Systems; kurzer Arm des Chromosoms Nr. 6 (Herold 1982)

Die Gene des HLA-Systems liegen auf dem kurzen Arm des Chromosoms Nr. 6. HLA-A, B, C, Antigene gehören zu den klassischen Transplantationsantigenen. Das MHC der Ratte wird RT1 genannt. HLA-A, B, und C entsprechen dem RT1-A-Antigen der Ratte, HLA-D, -DR dem RT1-B. Die verschiedenen RT1-Loci sind mit einem Allel besetzt, durch deren Kombination verschiedene Haplotypen entstehen.

Das MHC ist ein komplexes Antigenesystem, welches auf sämtlichen Zellen des Organismus vorhanden ist. Es bestimmt die Struktur der Zelloberflächen mit und kontrolliert die immunologischen Funktionen.

Zonen:	RT1 - A	B	C

Gene:	SD-Antigen	Ia-Antigen	H-C
	MLR-A	MLR-B	Ca-1
	H-Antigen	GvHR	Ca-2
	MIF	IR-Gene (R,Q)	

Tabl. 1: RT1-Zonen und die dazugehörigen Gene

Die RT1-A-Zone kodiert für die klassischen Transplantationsantigene wie z.B. SD-Antigene, für Zelloberflächenantigene, die gemischte Lymphozytenreaktionen hervorrufen und zusätzlich das H-Antigen, welches für akute und subakute Abstoßungen von Haut und Nierentransplantationen verantwortlich ist. Sie kontrolliert auch den MIF.

Die RT1-B-Zone, welche bisher noch nicht genau erforscht ist, determiniert Zelloberflächenantigene mit beschränkter Gewebsverteilung. Sie ist sowohl für Immunisierungsvorgänge als auch für Abstoßungsreaktionen und die Beeinflussung der MLR zuständig.

Die RT1-C-Zone besitzt als Markergen das H-C, welches zu subakuten Hautabstoßungen führt. Zusätzlich besitzt sie Zelloberflächenantigene, welche als Ca-1 auf peripheren T-Zellen und als Ca-2 auf Subpopulationen von B-Zellen nachweisbar sind.

Außer diesen gibt es noch RT-Ly-1 Antigene (ART-1), die auf T-Lymphozyten im Thymus und in der Peripherie vorkommen, nicht jedoch auf B-Zellen und im Knochenmark. Daneben bestehen noch RT-Ly-2-Antigene (56, 57, 58) und auch CT-Antigene (37), welche nur auf peripheren, reifen Zellen vorkommen.

2.3. TECHNIK DER LEBERTRANSPLANTATION AN RATTEN:

(14, 62)

2.3.1 Narkose und Technik

Jede Ratte erhielt während der Transplantation eine Äthernarkose. Nach der Anästhesie wurde das Operationsfeld mit einem elektrischen Rasierer enthaart. Nach gründlicher Reinigung und Desinfektion mit Braunosol erfolgte eine kleine Längsinzision distal des Xyphoids. In Form eines Transversalschnittes wurde die Haut durchtrennt und anschließend die Bauchhöhle eröffnet. Der Schnitt verlief von der Linea alba bis zur Medio-Axillar-Linie beidseits. Eine Klemme am Xyphoid spannte die Bauchhöhle auf. Die Därme wurden mit feuchten Tupfern nach unten abgestopft.

Somit konnte das kleine Netz einfach von der kleinen Kurvatur des Magens abgelöst werden. Die Vena cava inferior wurde vom unteren Leberrand bis zur Abgangsstelle der Vena renalis dextra freipräpariert. Die Vena suprarenalis dextra wurde aufgesucht und koaguliert. Anschließend stellte man die Arteria hepatica dar, indem Pfortader und Gallengang voneinander separiert wurde, und durchtrennte sie. Die Pfortader wurde bis zur Mündungsstelle der Vena lienalis freigelegt, dabei suchte man die Pylorusvene auf und koagulierte diese. Nachdem der Gallengang weit distal umschlungen und quer eröffnet wurde, konnte dieser mittels eines Tephlonkatheters (1/2 Aboket) kanalisiert werden. Mit Hilfe der Schlinge wurde der Katheter befestigt und der Gang ligiert. Als nächstes erfolgte die Abtrennung des Ligamentum coronarium dextrum und sinistrum vom oberen Rand der Leber, wobei bei letzterem sorgfältig auf die Koagulation von Gefäßen geachtet werden mußte (Vena phrenica inferior). Die Leber war nun frei beweglich und wurde zur Erholung in ihr Bett zurückgelegt. Gleichzeitig wurde sie mit feuchten Lappen bedeckt.

Danach wurde die Pfortader in Höhe der Einmündungsstelle der Vena lienalis abgeklemmt und punktiert. Über diesen Zugang

wurde die Leber mit 10 ml Lösung blutleer gespült, während gleichzeitig der Kreislauf durch Eröffnung der Vena cava inferior und Arteria abdominalis entlastet wurde. Dies führte zum Exitus des Spenders. Jetzt konnte die Pfortader und die infrahepatische Vena cava inferior durchtrennt und die subrahepatische Vena inferior mit einer Zwerchfellmanschette freigelegt werden. Das Transplantat wurde bis zur Implantation in einer eisgekühlten Ringerlösung aufbewahrt. Für die Implantation wurden die Anastomosenränder begradigt.

Empfänger: Narkose und Vorbereitung zur Leberexplantation des Empfängers entsprach der des Spenders. Zuvor wurde über die Penisvene Volumen infundiert (Butterfly, 5 mm Spritze). Durch einen Längsschnitt in der Linea alba vom Blaseniveau bis zum Xyphoid wurde die Bauchhöhle eröffnet. Um das kleine Netz abzupräparieren, mußte die Leber mit einem feuchten Lappen weggeklappt werden. Die Därme wurden in einer Frischhaltefolie stabilisiert und aus der Bauchhöhle gelagert. Die Freilegung der Vena cava inferior und die Versorgung der zuleitenden Gefäße erfolgte wie oben. Die A. hepatica wurde hier ligiert, während die Pylorusvene nach Darstellung des Pfortaderverlaufes nicht unterbunden wurde. Der Gallengang wurde nahe der Leberaustrittsstelle abgeklemmt und durchtrennt. Danach wurden das Ligamentum coronarium sinistra und dextra abpräpariert und die suprahepatische Vena cava inferior mit einem dicken Band angeschlungen. Um lange Anastomosenstücke zu erhalten, klemmte man die infra- und suprahepatische Vena cava inferior nahe der Leber ab. Nach Durchtrennung konnte die Leber herausgenommen werden. Im selben Zuge wurde die Spenderleber anatomisch gerecht, orthotrop in die Bauchhöhle gelegt. Mit 7,0 Prolene wurden zuerst Ecknähte an der suprahepatischen Vena cava inferior gesetzt und mit Clips gespannt. Nun konnte die Anastomose von dorsal verschlossen werden. Die Pfortaderstümpfe wurden beide in einer Klemme befestigt, an den Ecknähten gespannt und von ventral vernäht. Nachdem eine zweite Klemme proximal

gesetzt und die erste gelöst wurde, konnte die Anastomose gedreht und von dorsal her verschlossen werden (8,0 Prolene). Daraufhin wurden beide Anastomosen geöffnet und die Stümpfe der infrahepatischen Vena cava inferior anastomosiert. Zuletzt stülpte man den distalen Gallengangstumpf über die herausstehende Drainage und befestigte diesen nur an den Ecken. Eine Umschlingung mit dem großen Netz diente zur Revaskularisierung des Gallengangs. Nach Kontrolle aller Anastomosen konnte der Darm in die Bauchhöhle zurückverlegt, das Peritoneum geschlossen und die Haut fortlaufend vernäht werden (Technik nach F.A. Zimmermann).

2.3.2 Medikation

Während der Transplantation wurden folgende Medikamente verabreicht: Unmittelbar vor Entnahme der Spenderleber wurde diese mit 5 ml heparinisiertem Ringerlaktat und 5 ml gekühlter Plasma-Protein-Fraktion (PPF) perfundiert. Anschließend bewahrte man das Transplantat bei ca. 0 Grad C. in einer ebenfalls heparinisierten Ringerlaktatlösung auf. Die Empfängerratte erhielt während der Ex- und Implantation 4 ml PPF, 10 IE Heparin, 5 ml. Claphoran und 0,1 ml Konaktion (entspricht 1 mg). Die Anastomosen wurden mit einer heparinisierten Kochsalzlösung gespült. Die Wunde wurde desinfiziert und mit einem Sprühverband (Nobecutan) versorgt. Anschließend legte man die Tiere in den Käfig zurück und wärmte sie mit Rotlicht.

2.3.3 Postoperative Behandlung

Von einer medikamentösen Nachbehandlung wurde abgesehen, da man ein möglichst unverfälschtes Zellbild erhalten wollte. Ausnahme waren die allogenen transplantierten Ratten, die mit Ciclosporin therapiert wurden.

2.4. FEIN-NADEL-BIOPSIE:

2.4.1 Technik

Die Brustseite der narkotisierten Ratte wurde, wenn nötig, mit einem elektrischen Rasierer enthaart. Anschließend befestigte man die Tiere mit 4 U-Hacken an den Extremitäten auf einer Korkunterlage. Die Narkose wurde über eine Äthermaske aufrecht erhalten und anhand der Herz- und Atemfrequenz reguliert. Zur Punktion diente eine 10 ml Spritze sowie eine Kinderspinalnadel (Becton, Dickinson 25-G), die 1 cm proximal der Spritze mit einem roten Strich markiert war. Vor der Punktion wurde die Leber palpiert.

Nach gründlicher Desinfektion ging man perkutan im Dreieck zwischen Xyphoid und rechtem Rippenbogen in einem 45 Grad Winkel ein. Dabei sollte die Nadelspitze nach medio-cranial oder lateral geführt werden um eine Perforation des Zwerchfells, des Magens oder der Gefäße zu vermeiden. Zum selben Zweck wurde die Nadel markiert, um nicht zu tief zu stechen. Nun wurde so lange aspiriert, bis Gewebe und/oder Blut im Medium erschien. Bis zur Bearbeitung füllte man das Material in bereitstehende Reagenzgläser und deckte sie mit Paraffinfolien ab. Die Wunde wurde mit Novecutanspray versorgt. Peripheres Blut wurde aus der Schwanzvene gewonnen. Letztere wurde mit einem Skalpell angeritzt und das Blut in einer Pipette aufgefangen. Die Entnahmestelle wurde mit einem Sprühverband verschlossen. Das Blut bewahrte man in einem Reagenzglas mit heparisiertem Medium auf oder strich es auf einem Objektträger aus.

2.4.2 AUSWERTUNG:

2.4.2.1: Das gewonnene Aspirat wurde in Nährmedium aufbewahrt; 5-10 μ l wurden in eine Zytozentrifuge pipettiert und mit 200 μ l Hank'scher Lösung aufgefüllt. Das Ganze wurde bei 48 000 U/Min. 7 Min. zentrifugiert. Nachdem das Präparat getrocknet war, wurde es nach May Grünwald/Giemsa angefärbt. Zuletzt wurde es mit einem Deckblättchen versehen und ausgezählt. Die peripheren Blutaussstriche wurden nach derselben Färbemethode bearbeitet.

2.4.2.2: Erfolgreich war eine Biopsie, wenn nach dem Zentrifugieren 5-10 % Leber-Parenchymzellen im Nativpräparat mikroskopisch nachweisbar waren oder mindestens 5 Leberzellen pro Gesichtsfeld im angefärbten Präparat. Falls ein Präparat zu dicht oder zu dünn war, mußte dies erneut angefertigt werden.

2.4.2.3: Die Auswertung erfolgte an einem Lichtmikroskop, wobei man sich bei 40-facher Einstellung einen groben Überblick verschaffte und bei 1000-facher Vergrößerung 3 x 100 Zellen auszählte. Diese setzten sich aus Lymphozyten, Granulozyten, Monozyten und Makrophagen zusammen. Der angefertigte Ausstrich aus peripherem Blut wurde nach denselben Kriterien differenziert.

2.4.2.4: Aus der Differenz der einzelnen Zelltypen im peripheren Blutaussstrich und in der Aspirationszytologie errechnete sich das Inkrement. Dieses konnte sowohl negativ als auch positiv sein. Daraus wurden dann Rückschlüsse auf die Infiltration des Gewebes durch inflammatorische Zellen gezogen.

2.4.2.5: Die einzelnen Zelltypen wurden tabellarisch erfaßt und daraus Verlaufskurven erstellt: 1) Blut, 2) FNB, 3) Inkrement. Pro Tag und Tier wurde die Standardabweichung und der Mittelwert errechnet. Zum Vergleich des Zellverlaufes unter den einzelnen Gruppen zog man die Rang-Varianz-Analyse für unabhängige Stichproben nach Krustal-Wallis heran. Diese ist ein parameterfreier Vergleich für mehrere, unverbundene Beobachtungszeichen, denen jeweils Ränge zugeteilt wurden. Da aber die Vergleiche hier vielfach waren, galt die Irrtumswahrscheinlichkeit nicht mehr. Deshalb wurde ein X zugezogen. Dieser Wert ergab dann einen generellen Überblick über Veränderungen der Stichproben. War dies gegeben, wurden im Dunnstest die einzelnen Mittelwerte direkt verglichen (Lineare Kontraste). Dabei erhielt man einen Z-Wert, der eine genaue Signifikanz angab.

2.5 KNIPS- UND STANZBIOPSIE (40):

Die bis heute häufigste Methode, histologisch Material zu gewinnen, ist die klassische Biopsie. Sie wird in Form von Knips-, Schnitt-, oder Stanzbiopsie perkutan oder unter Laparaskopie durchgeführt. Indiziert ist sie bei Amyloidose, Neoplasien, Fettleber, Zirrhose und toxischer Hepatitis. Postbiopsische Komplikationen schränken dabei die Indikationsbreite ein, wobei Blutungen, Pneumothorax, gallige Peritonitis und Verletzung benachbarter Organe am häufigsten auftreten. Die Mortalität liegt unter 0,2 %.

2.5.1 Offene Biopsie

In unserem Falle wurde zur Biopsie laparotomiert. Aus dem Rand des Transplantates schnitt man mit dem Skalpell keilförmige Gewebstücke aus und fixierte sie in Formalin. Blutungen wurden koaguliert oder mit Fibrinschwämmen abgedeckt. Das Peritoneum und die Haut wurden fortlaufend genäht und die Wunde mit einem Sprühverband versorgt. Bis zum Aufwachen wurden die Tiere unter einer Rotlichtlampe gewärmt.

Die Eingriffe wurden unter Äthernarkose nur bei allogentransplantierten Tieren durchgeführt. Die Abstände zwischen den Biopsien betrugen 6 Tage. Das entnommene Material wurde histologisch untersucht.

2.6 CICLOSPORIN (67):

Verabreicht wurde Ciclosporin in 3 mg/Kg/Tag intramuskulär, aufgelöst wurde es in Olivenöl. Die Versuchstiere erhielten es, entsprechend dem Tageskörpergewicht, jeden 2. Tag in die Oberschenkelinnenseite injiziert. Am 30. Tag p.T. wurde die Therapie abgesetzt. Im Auslaßversuch erhielt ein allogentransplantiertes Tier (K=1) Ciclosporin bis zum 5. Tag, danach erst wieder ab dem 18. Tag p.T.

3. ERGEBNISSE

3.1 Komplikationen der Operation:

Operationslänge und schlecht kontrollierbare Narkose führten oft intraoperativ zu Atemstillstand und Kreislaufversagen. Größte Schwierigkeiten bereiteten Nachblutungen aus undichten Anastomosen. Diese traten meistens erst nach Verschluß der Bauchdecke auf. Seltener zu beobachten waren Wundheilungsstörungen und Infektionen, bzw. eine Peritonitis. Oftmals konnte nach Eröffnen der Gefäßanastomosen eine ungenügende Perfusion der Leber festgestellt werden. Betroffen waren meist stark gelappte Lebertransplantate.

3.2 Überlebenszeiten (Ku 1):

Gruppe 0: Von den 4 BN-Ratten in der Narkosegruppe überlebten 3 den Versuchszeitraum von 60 Tagen. Ein Tier starb unmittelbar an den Folgen einer Ätherüberdosis.

Gruppe I: Vier nichttransplantierte BN-Ratten der Kontrollgruppe überstanden ohne Verlust die Versuchsdauer. Danach wurden sie eingeschläfert und die Leber histologisch untersucht.

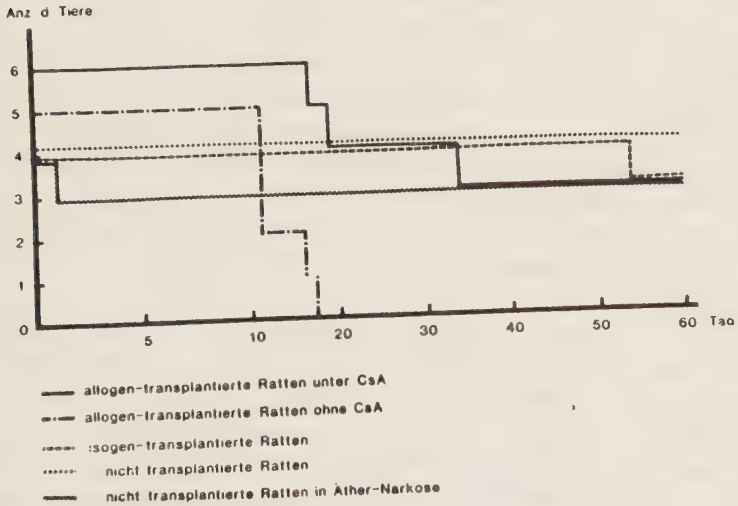
Gruppe II: Alle 5 isogen transplantierten BN-Ratten überlebten 30 Tage ohne Therapie. Am 51. Tag verstarb eine Ratte an den Folgen einer schweren Infektion.

Gruppe III: Drei der 5 unbehandelten, allogenen transplantierten Ratten (DA/BN) überlebten den 12. Tag p.T., eine den 15. Tag. Am 17. Tag p.T. verstarb das letzte Versuchstier. Todesursache war bei allen eine akute Leberabstoßung.

Gruppe IV: Diese Gruppe bestand aus 6 mit Ciclosporin behandelten, allogenen transplantierten Ratten (DA/BN). Von ihnen überlebten 4 das 30-tägige Zeitlimit. Ein Tier verstarb nach 16 Punctionen am 16. Tag an den Folgen der täglichen

Punktionen. Zwei Tiere starben zwischen dem 18. und 40. Tag an den Komplikationen, in erster Linie an (Anastomosenverschluß) der Transplantation. Drei Tiere lebten noch am 60. Tag.

Kurve 1: Überlebenszeiten der einzelnen Versuchsgruppen



3.3 GEWICHTSVERLAUF (Tab. 2)

Gruppe 0: An vier BN-Ratten mit einem Ausgangsgewicht von ca. 150 gr. wurde 63 Tage lang der Einfluß des Äthers auf die Gewichtsänderungen beobachtet (Tab. 2). In diesem Zeitraum erhielten die Tiere insgesamt 18 Narkosen. Bis zum 2. Tag fällt die Kurve allgemein stark ab. Am 5. Tage wird das Ausgangsgewicht wieder erreicht. Danach war ein kontinuierlicher Gewichtsanstieg zu verzeichnen.

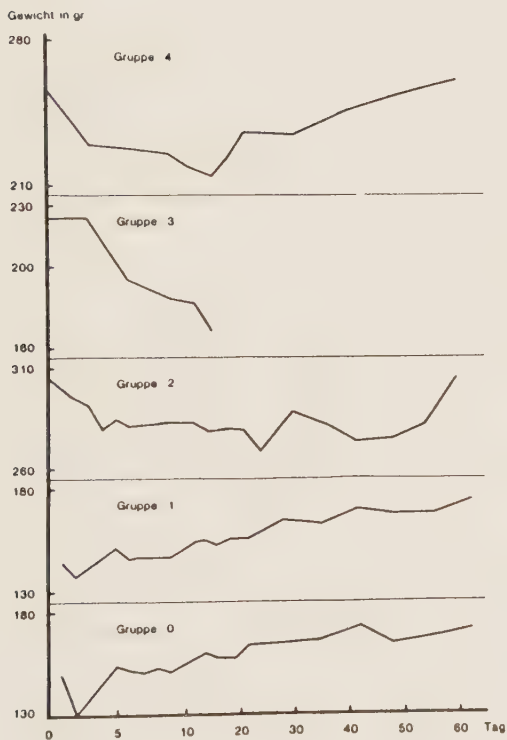
Gruppe I: Die nichttransplantierten BN-Ratten wurden in täglichen Abständen bis zum 10. Tag, in 2-tägigen Abständen bis zum 22. Tag, danach wöchentlich punktiert. Auch hier fiel das Gewicht am 2. Tag stark ab, erholte sich bis zum 5. Tag und stieg dann weiter an (Tabl. 2, Ku.2).

Gruppe II: Bei fünf isogen transplantierten BN-Ratten wurde in denselben Zeitintervallen wie oben, über 60 Tage 18 x die Leber punktiert. Der Gewichtsverlauf (Tab. 2, Ku. 2) zeigte einen deutlichen Abfall bis zum 6. Tage p.T. und hielt sich dann auf einem Plateau. Nach einem weiteren Abfall am 20. Tag, stieg das Gewicht mit einer Unterbrechung nach dem 40. Tag, deutlich.

Gruppe III: Fünf allogenen transplantierten Ratten (DA/BN) wurden innerhalb von 10 Tagen, in 3-tägigen Abständen, 3 x punktiert. Das Gewicht verhielt sich die ersten 3 Tage p.T. unauffällig. Ab dem 3. Tage sank es kontinuierlich. Nach dem 10. Tage p.T. wurden nur 2 Tiere punktiert und gewogen. Sie hatten am 15. Tag ein Drittel des Gewichtes verloren (Tab.2 Ku. 2)

Gruppe IV: Die 6 allogenen transplantierten und mit Ciclosporin behandelten Ratten wurden 9 x punktiert. Der zeitliche Intervall betrug 3 Tage. Das Gewicht fiel bis zum 15. Tag. Danach erholte sich das Körpergewicht deutlich (Tab.2 Ku. 2).

Kurve 2: Gewichtsverlaufkontrolle (in Gramm) der Versuchsgruppen (0-4) innerhalb 60 Tagen.



Tab. 2: Gewichtsverlauf der Versuchsgruppen O-4
(Mittelwert in Gramm und Standardabweichungen)

Age:	1	2	5	6	7	8	9	12	14	16	19	21	28	35	42	48	56	63
$\bar{x}$	150	124	154	152	151	153	151	157	160	158	158	163	164	166	172	164	167	172
$\bar{s}$	10,4	5,8	14,2	14,9	16,7	13,5	13,5	15,1	11,6	13,1	13,6	11,5	10,1	17,5	14,1	9,3	13,3	14,4
$\bar{x}$	145	137	151	146	147	147	149	154	155	153	156	156	165	163	170	168	168	174
$\bar{s}$	7,6	13	7,5	7	2,9	7,4	8,3	9,1	6,4	3,3	6,4	10,2	6,8	8,9	5,4	6,2	9,4	9,4
$\bar{x}$	306	295	285	281	-	-	283	283	278	-	279	218	288	282	273	274	281	305
$\bar{s}$	31,1	59,3	33,5	35,8	-	-	38,9	40,2	39,5	-	38	47,1	30,3	40,1	40,4	7,1	23,3	9,6
$\bar{x}$	224	224	-	193	-	-	184	182	169	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\bar{s}$	20,6	16,1	-	22,2	-	-	23,8	36,8	49,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
$\bar{x}$	257	240	-	228	-	-	225	217	214	-	223	236	235	-	246	254	-	271
$\bar{s}$	38,5	23,2	-	31,5	-	-	37,8	36,8	37,5	-	32,5	26,5	21,1	-	31,7	26,2	-	1,4

$\bar{x}$ = Mittelwert

$\bar{s}$ = Standardabweichung

3.4 BIOPSIEERGEBNISSE:

3.4.1 Definition der Zytologie und Blutbilder

Aspirat und peripherer Blutausschrieb wurden nach May Grünwald angefärbt. Durch die Qualität der Färbung erhielten die Zellen oftmals eine unterschiedliche Farbintensität. Differenziert wurden im Aspirat und im Blutbild segmentkernige, basophile und eosinophile Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten, ferner Makrophagen und Leberparenchymzellen. Gelegentlich wurden auch Mastzellen aus dem Abdomen aspiriert. Die Zellkerne und basophilen Granulas erschienen im Präparat violett, eosinophile Granula und Erythrozyten rot, neutrophile Granula rosa. Im Gegensatz dazu färbte sich das Zytoplasma der Lymphozyten in typisch bläulichem Ton an.

Als Monozyten wurden große, ovale Zellen mit schwach basophilen Granulas und blassem, gräulich-blauem Zytoplasma bezeichnet. Sie besitzen einen gelappten, scholligen oder nierenförmigen Zellkern, welcher zwei Drittel des Zellvolumens ausmacht und exzentrisch liegt. Ihr Durchmesser beträgt 16-23 μm . Die Lymphozyten, mit 7-10 μm Durchmesser, sind kreisrund. Sie besitzen einen schwachen Plasmasaum, der manchmal granuliert oder vacuolisiert ist. Die Kernplasmarelation ermöglicht die Differenzierung von kleinen und großen Lymphozyten. Der Kern erscheint rund und als dichte, homogene, chromatinreiche Struktur. Die neutrophilen Granulozyten sind 10-15 μm groß, der Kern teilt sich in 3-4 Segmente, die sich rosa anfärben. Im Plasma liegen rosa Granula. Die eosinophilen Granulozyten entsprechen in ihrer Größe den neutrophilen. Ihr Plasma enthält eosinophile Granula. Der Kern teilt sich in 2 Segmente. Makrophagen sind große gewebsständige Zellen mit einem großen spindelförmigen, maschenartig aufgelockerten Kern, der bläulich-grau gefärbt ist. Die Zellwand ist unregelmäßig und oft ausgezogen. Das Zytoplasma erscheint grau und vacuolisiert mit gelegentlich phagozytierten Partikeln. Die Unterscheidung von Kupfferschen Sternzellen

ist bisher noch nicht möglich. Die Hepatozyten sind große, rötlich-blaue bis violette Zellen. Ihr Durchmesser entspricht menschlichen Hepatozyten. Sie sind meistens rund und in Gruppen angeordnet. Bei ihnen können die Zellgrenzen oft schlecht ausgemacht werden, da sie häufig dicht beieinander und übereinander liegen. Der dunkle Zellkern erscheint sehr groß und rund bis oval. Er liegt zentral mit einem poliploiden Chromatin. Gelegentlich sind 2 Zellkerne zu erkennen. Das etwas hellere Zytoplasma zeigt eine maschige Struktur.

3.4.2.1 Biopsieergebnisse der Kontrollgruppe (Gruppe I):

Von den insgesamt 72 Punktionen waren 4 nicht verwertbar und mußten wiederholt werden.

Verlauf der FNB (Tab. 4, Ku.3): Das typische Zellbild am 1. Punktionstag bestand aus 24 % neutrophilen Granulozyten, 66 % Lymphozyten, 3 % Monozyten, 5 % eosinophilen Granulozyten und 2 % stabkernigen Granulozyten. Im Verlauf stiegen die segmentkernigen Granulozyten am 2. Tage stark an. Bis zum 10. Tag hatten sie sich wieder normalisiert. Nach einem erneuten Anstieg blieben sie erhöht. Die Lymphozyten fielen am 2. Tage stark ab. Nach einer Erholung am 8. Tage blieben sie, trotz starker Schwankungen erniedrigt. Die Monozyten stiegen am 5. Tage deutlich an, normalisierten sich wieder bis zum 20. Tage. Nach einem erneuten Anstieg blieben sie leicht erhöht. Die eosinophilen Granulozyten lagen bis zum 7. Tag im Normbereich, hatten am 15. Tag ein Maximum erreicht und normalisierten sich anschließend.

Verlauf des Differentialblutbildes (Tab.3, Ku. 3): Am 1. Tag fanden sich im Ausstrich 25 % neutrophile Granulozyten, 65 % Lymphozyten, 4 % Monozyten, 3 % eosinophile Granulozyten, 2 % stabkernige Granulozyten und 1 % granuliert Lymphozyten. Die neutrophilen Granulozyten variierten kontinuierlich um ihren Ausgangspunkt, mit vereinzelt niedrigen Gipfeln am 8., 15. und 56. Tag. Die Lymphozyten fielen umgekehrt am 5., 7., 18. und 56. Tag ab. Die Kurve der Monozyten und eosinophilen Granulozyten verlief bis zum 40. Tage parallel. Sie stiegen

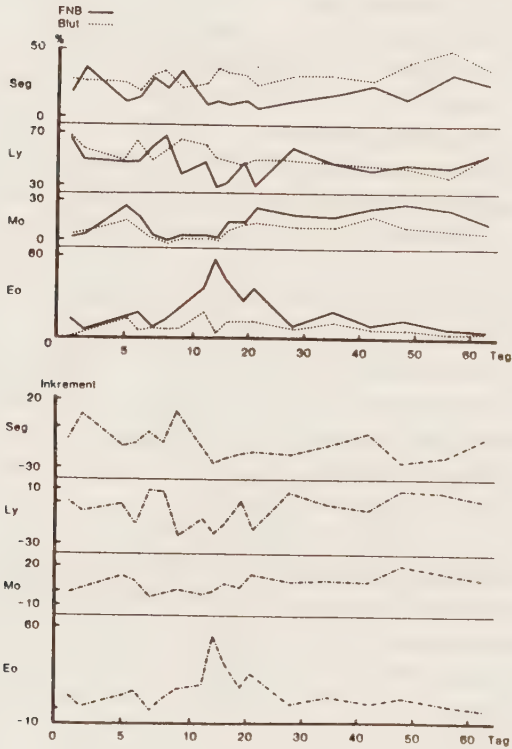
am 5. und am 20. Tage an. Die Monozyten erreichten am 42. Tag ein Maximum, um anschließend auf Normalwerte abzusinken.

Verlauf des Inkrements (Tab. 5, Ku.4): Das Inkrement am 1. Tag entsprach -1 neutrophilen Granulozyten, +1 Lymphozyten, -1 Monozyten, +2 eosinophilen Granulozyten, 0 stabkernigen Granulozyten und -1 granulierten Lymphozyten. Die neutrophilen Granulozyten stiegen am 2. Tag stark an. Am 9. Tage hatten sie den tiefsten Stand. Bis zum Ende des Versuches erlangten ihre Zahlen wieder die Norm. Die Lymphozyten sanken dagegen am 2. und am 10. Tage auf einen Tiefpunkt. Dann erfolgte eine allmähliche Normalisierung. Bei den Monozyten konnte bis zum 5. Tag ein Anstieg beobachtet werden, der am 7. Tag auf den Normalbereich zurückfiel. Danach stiegen sie wieder an und blieben erhöht. Die eosinophilen Granulozyten hatten am 12. Tag einen deutlichen Anstieg, ansonsten verliefen sie im Normbereich. Hepatozyten und Makrophagen gingen in das Inkrement nicht ein.

Histologische Leberbefunde nach FNB:

Den 4 punktierten Tieren wurde nach 65 Tagen die Leber entnommen, um sie auf histologische Veränderungen durch FNB zu untersuchen. Aus 1,5 x 1 x 0,5 cm großen Gewebsstücken ergab sich folgender, mikroskopischer Befund: Das Leberparenchym zeigte regelmäßig geordnete Leberbälkchen. Die portalen Felder waren unauffällig und nicht entzündlich infiltriert. Nahe der Oberfläche befanden sich einige große, relativ scharf begrenzte, alte und frische Nekrosezonen, die teilweise durch einen dichten Granulozytensaum demarkiert wurden. In der Tiefe lagen große, ebenfalls scharf begrenzte Bezirke, in denen das Gewebe mit Fibroblasten- und Kapillarproliferationen, sowie mit mäßig entzündlichen Infiltrationen (überwiegend Lymphozyten), angereichert war. Darüberhinaus fand man geringe Fibrinniederschläge, herdförmig angeordnete Siderophagen und Gallengangproliferationen. Gleichzeitig lag eine Proliferation des Serosadeckepithels der Leberkapsel vor.

Kurve 3: Verlauf der FNB und des Differentialblutbildes nicht-transplantierte BN-Ratten (Kontrollgruppe)



Kurve 4: Verlauf des Inkrements nicht-transplantierte Ratten (Kontrollgruppe)

Tab. 3: Zellverlauf der Kontrollgruppe im Blut
(Mittelwert und Standardabweichung)

Tage:	1	2	5	6	7	8	9	12	14	16	19	21	28	35	42	48	56	63
Seg: $\bar{x}$	25	27	26	20	31	34	23	26	37	33	31	25	31	31	29	41	50	35
$\bar{\sigma}$	9,0	10,2	4,9	7,1	17,2	13,2	7,6	12,6	13,6	28,8	8,7	10,5	8,8	12,7	20,0	5,3	11,7	12,0
Ly: $\bar{x}$	65	57	49	64	49	57	65	60	51	49	46	50	51	49	47	45	38	54
$\bar{\sigma}$	9,0	13,6	7,6	12,6	24,7	16,2	8,7	16,0	8,4	25,4	6,8	7,2	15,7	14,0	14,6	3,3	12,7	15,7
Mo: $\bar{x}$	4	7	15	11	7	3	4	5	3	8	12	13	11	10	18	9	8	6
$\bar{\sigma}$	1	4,7	2,9	3,7	1,5	2,7	1,3	2,6	0,8	4,2	4,5	4,6	8,5	4,5	4,4	6,3	2,5	0,5
EO $\bar{x}$	4	6	16	5	8	6	7	19	4	11	12	12	7	11	6	6	3	6
$\bar{\sigma}$	1,0	1,7	17,1	2,9	4,0	0,5	3,1	22,9	3,4	3,8	8,7	7,2	5,8	9,0	3,2	3,5	4,3	4,7

$\bar{x}$ = Mittelwert

$\bar{\sigma}$ = Standardabweichung

Tab. 4: Zellablauf der Kontrollgruppe in der FNB
(Mittelwert und Standardabweichung)

Tage :	1	2	3	4	5	6	7	8	9	12	14	16	19	21	28	35	42	48	56	63
Seg: $\bar{x}$	24	36	12	15	29	22	34	10	12	10	13	8	13	18	24	15	32	26		
$\bar{\sigma}$	6,8	25,6	6,3	9,4	29,8	7,9	18,0	3,4	5,5	5,3	4,0	1,5	4,0	11,2	0,8	4,2	10,3	8,3		
Ly: $\bar{x}$	66	49	48	49	59	67	40	49	28	34	48	31	59	48	43	47	45	55		
$\bar{\sigma}$	5,3	19,6	12,3	20,5	21,0	8,3	16,3	15,4	10,3	14,3	8,5	10,7	11,4	8,3	11,6	8,4	5,2	12,9		
Mo: $\bar{x}$	3	5	26	18	4	1	4	4	3	14	14	24	19	18	24	27	23	13		
$\bar{\sigma}$	1,4	4,3	11,3	7,9	4,3	0,5	1,5	1,3	2,2	10	5,2	5,6	8,1	8,2	9,6	5,3	3,4	10,5		
EO: $\bar{x}$	8	6	15	18	7	13	21	36	57	41	26	36	9	19	10	13	6	5		
$\bar{\sigma}$	6,6	5	6,2	7,4	5,4	8,1	5,7	16,2	12,7	17,5	8,5	5,6	4,4	11,9	6,5	4,2	1,7	2,5		

$\bar{x}$ = Mittelwert

$\bar{\sigma}$ = Standardabweichung

Tab. 5: Verlauf des Inkrements in der Kontrollgruppe
(Mittelwert und Standardabweichung)

Tage:	1	2	5	6	7	8	9	12	14	16	19	21	28	35	42	48	56	63
Seg: $\bar{x}$	-1	+9	-14	-12	-4	-12	+11	-16	-26	-23	-19	-18	-19	-13	-5	-26	-21	-8
$\bar{s}$	5,0	30,7	10,0	18,2	35,6	17,3	21,4	13,2	10,8	32,9	6,7	10,7	9,2	4,4	14,9	8,7	11,9	11,4
Ly: $\bar{x}$	+1	-6	-1	-16	+9	+8	-25	-11	-23	-15	+2	-20	+8	-1	-5	+8	+6	+2
$\bar{s}$	13,1	8,8	7,8	32,7	34,4	12,6	17,7	5,7	17,3	21,5	9,7	11,9	11,4	20,8	14,7	11,3	10,9	23,3
Mo: $\bar{x}$	-1	+2	+11	+8	-4	-2	+1	-2	0	+6	+3	+12	+7	+8	+7	+18	+14	+8
$\bar{s}$	2,4	9,1	16,9	10,3	5,5	2,4	2,8	3,7	2	13,7	2,4	5,2	1,5	9,1	10,1	7,4	5,2	10,7
EO: $\bar{x}$	+5	1	9	13	-1	8	14	17	53	32	14	25	3	8	4	7	2	-1
$\bar{s}$	6,2	6,2	9,3	5,2	8,0	7,4	7,4	14	14,7	12,4	6,8	10	3,4	15,4	2	3,8	3,9	4,3

$\bar{x}$ = Mittelwert

$\bar{s}$ = Standardabweichung

3.4.2.2 Biopsieergebnisse der isogen-transplantierten Ratten

(Gruppe II):

Fünf isogen transplantierte Ratten wurden in einem Zeitraum von 60 Tagen 17 x punktiert. Von insgesamt 65 Punktionen mußten 10 wiederholt werden. Die Tiere dieser Versuchsgruppe wurden nicht medikamentös behandelt.

Verlauf des Differentialblutbildes (Ku. 5. Tab.6): Die neutrophilen Granulozyten waren am 2. Tag p.T. über das Doppelte angestiegen und näherten sich am 9. Tage wieder dem Normalwert. Danach stiegen sie erneut an und blieben leicht erhöht. Umgekehrt sanken die Lymphozyten am 2. Tag. Sie erholten sich zwar am 9. und 25 Tage p.T., blieben ansonsten erniedrigt. Die Zahl der Monozyten verdoppelte sich am 14. Tage. Am 17. Tage erholten sie sich etwas und blieben danach bis zum 40. Tage erhöht. Gegen Versuchsende normalisierten sich die Werte wieder. Die eosinophilen Granulozyten blieben bis auf eine leichte Erhöhung am 7. Tage unverändert. Im Differentialblutbild zeigte sich eine persistierende Granulozytose und Lymphozytopenie.

Verlauf der Cytologie in der FNB (Ku. 5, Tab. 7): Die neutrophilen Granulozyten stiegen, wie im Blutbild, am 2. Tage p.T. stark an. Ab dem 14. Tage konnte eine persistierende Granulozytose und Lymphopenie festgestellt werden, wobei die Lymphozytenwerte den Granulozytenzahlen direkt entgegengesetzt verliefen. Die Monozyten blieben seit dem 3. Tage p.T. erhöht. Bei den eosinophilen Granulozyten zeigte sich am 3. Tage ein Anstieg, danach lagen sie im Normbereich. Zum ersten Mal erschienen in dieser Versuchsgruppe Makrophagen, besonders am 3. und 4. Tage. Ab dem 7. Tage waren sie nur noch vereinzelt zu beobachten.

Verlauf des Inkrements (Ku.6, Tab. 8): Das Inkrement der neutrophilen Granulozyten zeigte im Verlauf große Schwankungen um den Nullpunkt. Maxima ergaben sich am 2., 9. und 40. Tag p.T., Minima am 4., 11., 21. und 37. Tag. Die

Lymphozyten erreichten Höchstwerte am 4. und 21., Tiefstwerte am 9., 14. und 40. Tag. Bei den Monozyten gab es erwähnenswerte Höhepunkte am 3., 11. und 37. Tage. Meistens lag diese Zellart über dem Normalwert. Wie in der FNB ist das Inkrement der eosinophilen Granulozyten am 9. Tage p.T. deutlich erhöht. Ansonsten war der Verlauf unauffällig. Außer den großen Schwankungen der neutrophilen Granulozyten und Lymphozyten war besonders gegen Schluß des Versuchs eine kontinuierliche Erhöhung der Monozyten auffällig.

Verlaufskontrolle durch Schnittbiopsien:

Parallel zur FNB und dem Differentialblutbild wurden in 6-tägigen Abständen Gewebeproben der Leber entnommen und histologisch untersucht.

6. Tag p.T.:

Regelmäßig gerade Hepatozytenbällchen, keine Leberzellnekrose, Portalfelder nicht verbreitert, aber mit kleinen Lymphozyten und Granulozyteninfiltraten; Gallengänge mit kleinen, entzündlichen Infiltraten, jedoch nicht destruiert.

FNB und Differentialblutbild: stark erhöhte Monozyten und Granulozyten, deutlich erniedrigte Lymphozyten.

12. Tag p.T.

Leicht verbreiterte Portalfelder mit Lymphozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, die den Gallengängen zugeordnet sind; Gallenepithel ohne Befund.

FNB und Differentialblutbild entsprechen dem 6. Tage p.T.

18. Tag p.T.

Unveränderter Zustand in Histologie, FNB und Differentialblutbild, wie am 12. Tage; auffällig erschien eine geringe Proliferation der Gallengänge.

24. Tag p.T.

Derselbe Zustand wie zuvor in Histologie und FNB; im Differentialblutbild mäßiger Anstieg der neutrophilen Granulozyten und Absinken der Lymphozyten.

30. Tag p.T.

Einzelzellnekrosen der Hepatozyten; deutliche Verbreiterung und Fibrosierung der Portalfelder mit vermehrter Proliferation der Gallengänge und dichter, entzündlicher Infiltration des Parenchyms entlang der Sinusoide, vorwiegend durch Lymphozyten und Plasmazellen, weniger durch Granulozyten.

In der FNB unverändertes Zellbild, im Differentialblutbild weiterer Anstieg der Granulozyten und kein weiterer Abfall der Lymphozyten; Monozyten gleichbleibend.

36. Tag p.T.

Breite Bindegewebesepten mit Einstrahlung ins Leberparenchym; vermehrte Wucherung der Gallengänge. In der FNB annähernde Normalisierung der Granulozyten und Lymphozyten mit geringem Anstieg der Monozyten. Das Differentialblutbild weiterhin unverändert.

42. Tag p.T.

Deutlich verbreiterte, septenförmig ausgezogene Portalfelder, die miteinander anastomosieren; wuchernde Gallengänge, sowie entzündliche Infiltrate von Lymphozyten und Plasmazellen, die sich ins benachbarte Lebergewebe vorschieben.

FNB: Erneuter Anstieg der Granulozyten und Abfall der Lymphozyten und Monozyten. Differentialblutbild: Lymphozyten und Granulozyten weiterhin unverändert, mäßiger Abfall der

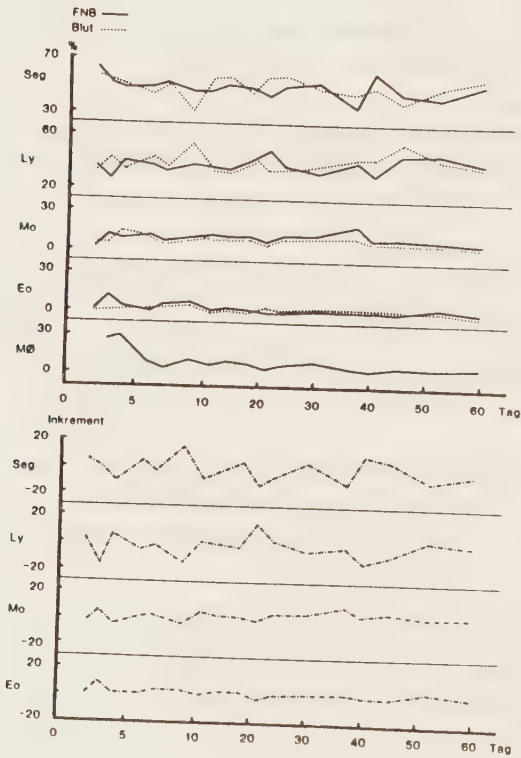
Monozyten.

48. Tag p.T.

Regelmäßige Infiltration von Lymphozyten und Granulozyten, mäßige Fibrose der Portalfelder, keine Cholangitis erkennbar. In der FNB steigen die Granulozyten wieder an. Die Lymphozyten fallen ab.

Ein geringer Anstieg der Granulozyten und mäßiger Abfall der Lymphozyten, mit leichter Erhöhung der Monozyten, zeigt sich im Differentialblutbild.

Kurve 5: Verlauf der FNB und des Differentialblutbildes isogen-transplantiertter BN-Ratten (BN/BN)



Kurve 6: Verlauf des Inkrements isogen-transplantiertter BN-Ratten (BN/BN)

Tab. 6: Zellverlauf im peripheren Blut bei isogen-transplantierten BN-Ratten ($\bar{x}/\bar{g}$)

Tag:	2	3	4	6	7	9	11	14	18	21	24	30	37	40	45	52	60
Seq: $\bar{x}$	57	51	51	44	55	31	55	53	45	55	56	48	45	49	39	50	55
$\bar{g}$	-	15,6	24,6	19,7	5,0	9	14,4	13,5	8,5	19,3	23,8	20,3	14,2	4,2	10,7	15,4	21,6
Ly: $\bar{x}$	32	43	34	42	36	52	36	36	44	34	34	38	43	43	54	43	39
$\bar{g}$	-	14,9	17,3	16,4	4,2	5,3	17,6	11,3	8,4	14,8	19,9	20,3	11,3	10,1	9,6	11,8	18,9
Mo: $\bar{x}$	5	5	13	10	5	12	8	8	11	8	8	9	9	6	6	6	5
$\bar{g}$	-	2,1	7,2	6,6	2,9	6,5	5,4	10	7,4	6,6	9,1	6,1	9,1	4,2	3,6	3,3	2,5
EO: $\bar{x}$	2	2	2	2	4	4	1	2	0	3	1	3	3	1	2	2	1
$\bar{g}$	-	0,7	1,7	1,5	4,7	1,5	0,8	1,8	0,5	3,1	1,3	2,8	2,6	0,7	1,5	1,7	0,6

Tab. 7: Zellverlauf in der PNB bei isogen-transplantierten
BN-Ratten ($\bar{x}$ / $\bar{\sigma}$)

Tage:	2	3	4	6	7	9	11	14	18	21	24	30	37	40	45	52	60
Seg: $\bar{x}$	63	51	48	49	52	46	46	50	48	43	50	52	34	59	44	42	51
$\bar{\sigma}$	-	24	28	9,1	7	11,1	12,1	24,5	12,3	8,7	15,9	13,4	18,9	5	21,7	14,8	13,2
Ly: $\bar{x}$	35	27	40	37	34	38	37	35	41	48	37	33	40	31	45	46	40
$\bar{\sigma}$	-	21,2	24,3	9,1	7,0	15,0	9	16,6	12,9	3,1	15,6	10,0	3,8	2,1	19,7	15,2	16,1
Mo: $\bar{x}$	2	11	9	11	7	9	11	10	10	7	11	12	18	9	9	7	6
$\bar{\sigma}$	-	8,5	6,7	3,1	4,6	5	6,9	8,2	3,9	4,9	12,0	6,3	13,1	6,4	3,7	2,1	2,6
EO: $\bar{x}$	1	11	4	2	6	7	2	3	2	1	1	2	2	1	1	4	2
$\bar{\sigma}$	-	10,6	2,6	3,2	6,1	6,7	0,8	6,5	2,2	0,6	0,8	2,6	3,2	0,7	1,2	7,2	1,5
MØ: $\bar{x}$	-	25	28	8	4	9	6	8	6	3	6	8	3	2	4	3	4
$\bar{\sigma}$	-	0	18	7,6	2,8	2,1	4,0	10,1	7,8	5,0	6,2	6,8	1,7	2,1	4,6	3,4	2,5

Tab. 8: Verlauf des Inkrements bei isogen-transplantierten BN-Ratten ($\bar{x}/\bar{y}$)

Tage:	2	3	4	6	7	9	11	14	18	21	24	30	37	40	45	52	60
Seg: $\bar{x}$	+6	0	-10	+3	-3	+15	-9	-4	+4	-13	-6	+4	-11	+10	+6	-9	-4
$\bar{y}$	-	6	15	17,7	10,6	5,6	13	12,3	8,9	23,2	10	12,4	3,8	0,7	13,9	24	20
Ly: $\bar{x}$	+3	-16	+6	-5	-2	-14	-1	-1	-3	+15	+2	-5	-2	-13	-9	+3	+1
$\bar{y}$	-	6,4	19,1	8,2	7,7	11,7	18,1	15,2	7,2	15,5	11,8	12,1	15,5	13,4	18,2	18,1	20,2
Mo: $\bar{x}$	-3	+6	-4	+1	+2	-3	+4	+2	+1	-1	+2	+3	+9	+3	+4	+2	+2
$\bar{y}$	-	9,9	2,5	9,5	1,7	1,5	10,9	14,1	4,1	8,3	4,2	6,5	4,9	7,5	6,1	4,9	4,0
EO: $\bar{x}$	-1	+9	+2	+1	+3	+3	0	+2	+2	-2	0	1	1	0	-1	+3	+1
$\bar{y}$	-	9,9	3,6	2,1	3,2	6,8	1,6	7,8	2,4	2,7	1,2	3,2	4,3	0	1,4	7,4	1,5

3.4.2.3. Biopsieergebnisse der unbehandelten, allogenen transplantierten Ratten (Gruppe III)

Durchgeführt wurden 8 allogene Transplantationen von DA- auf BN-Ratten, von denen 3 Tiere in 24 Stunden p.T. starben. Die restlichen 5 Ratten wurden in 15 Tagen, bei einer durchschnittlichen Lebensdauer von 13 Tagen, 3-4 x punktiert und 3 x biopsiert. Die Punktionsintervalle betrugen 3 Tage. Alle 17 Punktationen waren verwertbar. Die Versuchstiere wurden nicht behandelt. Post mortem wurde die Leber histologisch untersucht.

Verlauf des Differentialblutbildes (Tab. 9, Ku.7): Nach der ersten Blutentnahme, am 3. Tage p.T., waren die neutrophilen Granulozyten um die Hälfte gesunken. Am 12. Tage waren sie um das Doppelte erhöht. Die Lymphozyten zeigten am Anfang eine leichte Erhöhung, fielen dann rapide ab. Ebenso stiegen die Monozyten am 3. Tage p.T. an und nahmen bis zum 12. Tage deutlich ab. Die eosinophilen Granulozyten blieben über die Versuchsdauer unauffällig.

Verlauf der Cytologie in der FNB (Tab.10, Ku.7): In der Leberzytologie zeigte sich ein leichter Abfall der neutrophilen Granulozyten am 3. Tage p.T., dem ein deutlicher Anstieg am 12. Tage folgte. Die Lymphozyten fielen, nachdem sie am 3. Tage bereits erniedrigt waren, weiterhin ab. Dem entgegen waren die Monozyten am 3. Tage sehr erhöht und blieben es bis zum 12. Tage p.T. Bei den eosinophilen Granulozyten trat keine besondere Bewegung auf. Die Makrophagen stiegen erst im Verlauf an. Gegen Ende des Versuches betrug der Anteil der Monozyten und Makrophagen an der Gesamtpopulation der infiltrierenden Zellen ca. 10 %.

Verlauf des Inkrements (Tab.11, Ku.8): Die neutrophilen Granulozyten waren am 3. und 12. Tage stark angestiegen, fielen aber im Verlauf des Versuches unter den Normalwert ab. Nachdem die Anzahl der Lymphozyten am 3. Tage p.T. vermindert

waren, stiegen sie zwar im Verlauf etwas an, blieben jedoch ständig unter dem Normalbereich. Die Monozyten, stiegen nach hohen Werten, am 3. Tage weiter, bis zum Ende des Versuches, an. Das Inkrement der eosinophilen Granulozyten blieb im Normbereich. Insgesamt war das Bild des Inkrementes durch den Verlauf der Monozyten geprägt.

Histologie:

Die allogene-transplantierten Ratten wurden, in 3-tägigen Intervallen, 3-5 x unter einer Laparatomie biopsiert. Die durchschnittliche Lebensdauer betrug 13 Tage.

Dies erbrachte folgende Ergebnisse:

3. Tag p.T.:

Geringe Verbreiterung der portalen Felder mit Infiltration von Lymphozyten und Granulozyten; keine Leberzellnekrosen, keine Cholestase oder Cholangitis.

FNB: Die Lymphozytenzahl war etwas, die Monozytenzahl stark erhöht; die neutrophilen Granulozyten deutlich erniedrigt. Im peripheren Blut zeigte sich dasselbe Bild.

6. Tag p.T.:

Stark verbreiterte und ödematöse Portalfelder mit dichter Infiltration von Lymphozyten, Plasmazellen, Histiozyten und wenigen Granulozyten; ferner fleckenförmige Zellnekrosen; Gallenepithel und Lumen mit Granulozyten angereichert, ebenso die Zentralvenen. In der FNB hatten sich die Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten normalisiert. Die Monozyten blieben erhöht, die Zellpopulation im Differentialblutbild verhielten sich analog.

9. Tag p.T.:

Konfluierende Portalfelder mit dichter Infiltration von Lymphozyten und Plasmazellen, die in die Sinuside und in das Parenchym eindringen; herdförmige Leberzellnekrosen mit Aufhebung der Leberarchitektur und Blutungen; Fibrose der portalen Felder und Gallengangwucherungen; Aktivierung der

Kupfferschen Sternzellen. FNB und Differentialblutbild ergaben keine wesentliche Veränderung gegenüber dem 6. Tage p.T.

12. Tag p.T.:

Entspricht dem 9. Tage, mit vergrößerten Nekrosebezirken und Infiltration der Gallengänge. FNB und Differentialblutbild sind weiterhin unverändert.

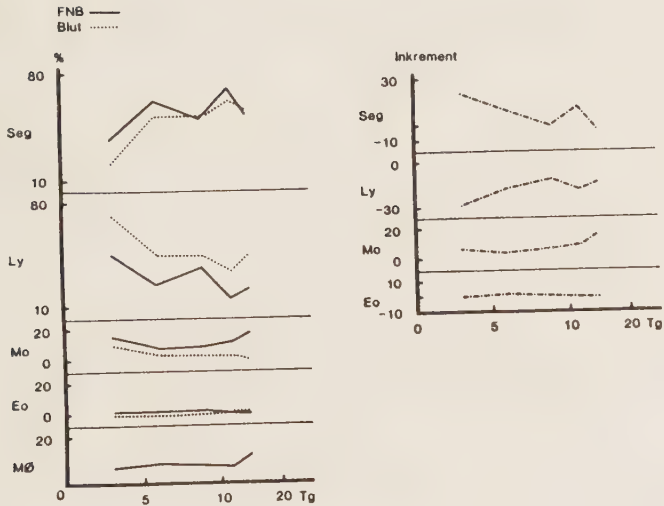
15. Tag p.T.:

Entspricht dem 12. Tage, mit teilweise zerstörtem, nicht mehr abgrenzbaren Gallengangskapillaren in den Portalfeldern. In der FNB sind jetzt Monozyten und Makrophagen deutlich erhöht, während das Differentialblutbild immer noch unverändert ist.

Post mortem:

Die gewebliche Untersuchung der Leber ergab: Entzündliche Infiltrationen der Portalfelder, Sinusuide und des Parenchyms; Zellnekrose, Fibrose und konfluierende Nekrosebezirke; Gallengangswucherungen. Dieser Befund galt für die Tiere, die am 12., 15. und 17. Tag p.T. starben. Für die, die nach p.T. starben, war der morphologische Befund der Lunge, Leber und Niere nicht ausreichend für den plötzlichen Tod durch eine Abstoßung.

Kurve 7.: Verlauf der FNB und des Differentialblutbildes unbehandelter allogentransplantierte BN-Ratten (DA/BN)



Kurve 8.: Verlauf des Inkrements unbehandelter, allogentransplantierte BN-Ratten (DA/BN)

Tab. 9: Zellverlauf des peripheren Blutes bei unbehandelten, allogentransplantierten BN-Ratten ($\bar{x}/\bar{b}$)

Tage: 3 6 9 12 15

Seg: $\bar{x}$ 16 52 52 61 55

$\bar{b}$ 3,1 20,2 23,1 13,4 9,2

Ly: $\bar{x}$ 73 43 43 33 44

$\bar{b}$ 4,4 20,9 23,0 7,8 9,2

Mo: $\bar{x}$ 9 4 3 3 1

$\bar{b}$ 6,4 1,6 2,5 4,2 0,7

EO: $\bar{x}$ 1 0 1 1 1

$\bar{b}$ 1 0,4 1,3 0 0,7

Tab. 10: Zellverlauf der FNB bei unbehandelten, allogentransplantierten BN-Ratten ($\bar{x}/\bar{b}$)

Tage: 3 6 9 12 15

Seg: $\bar{x}$ 37 62 51 71 51

$\bar{b}$ 3,6 17,4 13,4 7,1 8,5

Ly: $\bar{x}$ 45 25 36 15 22

$\bar{b}$ 9,3 12,7 13,4 3,5 11,8

Mo: $\bar{x}$ 16 8 9 13 18

$\bar{b}$ 9,0 6,2 2,9 2,1 9,5

EO: $\bar{x}$ 1 1 1 0 0

$\bar{b}$ 0,6 1,6 1,6 0 0

MØ: $\bar{x}$ 1 3 2 1 9

$\bar{b}$ 1,2 2,4 2,1 0,7 5,0

Tab. 11: Verlauf des Inkrements bei unbehandelten,allogen -
transplantierten BN-Ratten ($\bar{x}/\bar{e}$)

Tage:	3	6	9	12	15
Seg: $\bar{x}$	+21	+10	-1	+11	-4
$\bar{e}$	5,9	7,6	18,8	20,5	0,7
Ly: $\bar{x}$	-29	-18	-7	-18	-14
$\bar{e}$	4,7	12,4	14,9	11,3	4,2
MO: $\bar{x}$	+7	+4	+6	+9	+17
$\bar{e}$	3	6,8	5,2	6,4	2,8
EO: $\bar{x}$	0	+1	0	-1	-1
$\bar{e}$	1,2	1,9	2,7	0	0,7

3.4.2.4 Biopsieergebnis der allogenen-transplantierten Ratten (DA/BN) mit Ciclosporin Behandlung (Gruppe IV):

Von den 6 mit Ciclosporin behandelten, allogenen-transplantierten Ratten überlebten vier Tiere 30 Tage, drei 40 Tage und zwei 60 Tage. Als Versuchszeit waren 30 Tage angesetzt. Innerhalb dieser Zeit verstarb ein Tier an den Folgen der täglichen Punktion. Ein zweites endete am 21. Tag p.T. an inneren Blutungen. Insgesamt wurden in 30 Tagen 8 Punktionen und Biopsien, pro Tier, durchgeführt. Alle waren verwertbar. Jeden 2. Tag erhielten die Tiere 3 mg/kg Ciclosporin intramuskulär gespritzt.

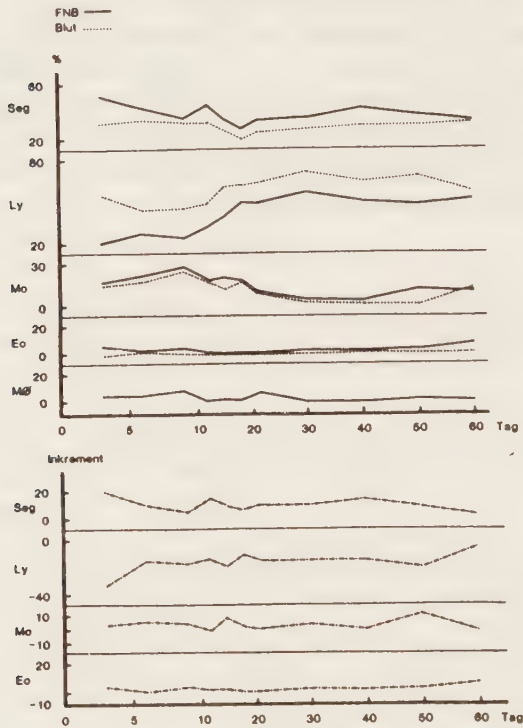
Differentialblutbild (Tab. 12, Ku.9): Die neutrophilen Granulozyten blieben insgesamt normal. Die Lymphozyten sanken bis zum 12. Tag leicht ab und erholten sich wieder im weiteren Verlauf. Die Monozyten blieben bis zum 21. Tag deutlich erhöht. Sie hatten ihr Maximum am 9. Tage p.T. Nach Tag 30 fielen sie auf Normalwerte zurück. Die eosinophilen Granulozyten blieben unverändert.

FNB (Tab. 13, Ku. 9): Die neutrophilen Granulozyten stiegen um 100 %. Sie normalisierten sich nach dem 6. Tage p.T. Die Lymphozyten blieben erniedrigt. Normalwerte erreichten sie nie. Dagegen stiegen die Monozyten bis zum 9. Tage stark an, blieben bis zum 21. Tage erhöht und fielen dann in den Normbereich zurück. Die eosinophilen Granulozytenzahlen bewegten sich in den ersten 10 Tagen kaum. Dagegen waren die Makrophagen bis zum 21. Tage erhöht, danach normalisierten sie sich.

Inkrement (Tab. 14., Ku.10): Die neutrophilen Granulozyten waren in dem gesamten Verlauf erhöht, die Lymphozyten dagegen erniedrigt. Die Monozyten stiegen bis zum 15. Tag und fielen dann ab. Bei den eosinophilen Granulozyten ergab sich keine Veränderung.

Histologie: Makroskopisch war die transplantierte Leber bis zum 6. Tage unverändert. Im weiteren Verlauf kam es zu einer mäßigen Schwellung mit stumpfen Rändern. Histologisch zeigten sich ödematös geschwollene, portale Felder mit geringer, entzündlicher Infiltration, - vorwiegend durch Granulozyten, weniger durch Lymphozyten, mit einer mäßigen Proliferation der Gallengänge. Insgesamt konnte keine weitere Progredienz beobachtet werden. Auch die Laborparameter der Leber (GOT, GPT, Gamma-GT, Bilirubin und alkalische Phosphatase) zeigten keine pathologischen Veränderungen.

Kurve 9: Verlauf der FNB und des Differentialblutbildes der mit Ciclosporin behandelten, allogen-transplantierten BN-Ratten (DA/BN)



Kurve 10: Verlauf des Inkrements der mit Ciclosporin behandelten, allogen-transplantierten BN-Ratten (DA/BN)

Tab. 12: Verlauf des peripheren Blutes bei C1 behandelten, allogenen-transplantierten BN-Ratten (DA/BN)

Tage:	3	6	9	12	15	18	21	30	40	50	60
Seg: $\bar{x}$	31	33	32	32	27	20	25	27	2	29	31
$\bar{6}$	9,0	11,6	15,7	8,6	13,3	9,9	12	9,7	8,5	2,1	9,9
Ly: $\bar{x}$	55	44	45	48	60	61	63	71	65	68	57
$\bar{6}$	15	17,7	20,1	18,2	7,9	19,1	15,6	8,4	10,6	1	5,7
Mo: $\bar{x}$	15	17	24	19	12	17	10	2	4	1	12
$\bar{6}$	9,1	8,3	10,9	10,9	10,7	10,6	11,1	1,3	4	1,7	14,9
EO: $\bar{x}$	1	2	1	1	0	1	1	0	1	1	0
$\bar{6}$	1,7	2,2	1,4	0,8	0,5	0,6	1,4	0	0	1	0

Tab.13: Zellverlauf der FNB ($\bar{x}/\bar{6}$) bei Ci behandelten, allogentransplantierten BN-Ratten (DA/BN)

Tage:	3	6	9	12	15	18	21	30	40	50	60
Seg: $\bar{x}$	52	43	35	45	35	27	34	36	43	37	33
$\bar{6}$	18,1	19,4	21,1	9,0	9,0	17,1	21,8	15,1	16,1	15,5	1,4
Ly: $\bar{x}$	21	28	25	33	40	50	49	56	50	48	51
$\bar{6}$	6,8	13,2	9,4	13,1	4,3	28,6	20,7	10,8	15	13,7	2,1
Mo: $\bar{x}$	17	22	28	19	20	19	10	5	4	11	10
$\bar{6}$	10,4	9,1	11,1	12,7	8,2	14,2	8,9	2,9	0,6	6,4	3,5
EO: $\bar{x}$	5	3	4	2	1	1	1	2	2	3	7
$\bar{6}$	3,1	3,8	3,5	0,6	1,9	0,6	1,5	1,3	0,6	3,5	0,7
MØ: $\bar{x}$	5	5	8	1	2	2	6	0	0	1	0
$\bar{6}$	4,6	9,2	9,0	1,5	0,8	2,1	9,3	0	0	1,7	0

Tab.14: Inkrement ($\bar{x}/\bar{6}$) bei Ci behandelten, allogentransplantierten BN-Ratten (DA/BN)

Tage:	3	6	9	12	15	18	21	30	40	50	60
Seg: $\bar{x}$	+19	+10	+5	+14	+9	+6	+9	+9	+13	+8	+2
$\bar{6}$	18,9	13,2	16,8	9,3	6,8	8,1	15,3	11,5	7,6	17,5	6
Ly: $\bar{x}$	-34	-16	-18	-15	-20	-11	-15	-15	-15	-20	-7
$\bar{6}$	20,7	7,7	20,3	14,1	10,5	11,1	6	8,1	6,6	14,4	3,5
Mo: $\bar{x}$	+3	+5	+4	-1	+8	+2	0	+3	0	+10	-2
$\bar{6}$	10,6	10,3	12,8	9,7	5,2	3,6	7,7	2,2	6,4	7,2	11,3
EO: $\bar{x}$	+3	0	+3	+1	+1	0	0	+2	+1	+2	+6
$\bar{6}$	4,0	2,7	4,1	0,9	2,1	1	2,5	0,6	0,6	4,2	0,7

AUSLABVERSUCH:

Dieser Versuch wurde an einer einzelnen, allogren-transplantierten Ratte durchgeführt (DA/BN). Das Tier wurde mit Ciclosporin bis zum 5. Tage p.T. behandelt. Dann wurde Ciclosporin abgesetzt und erst am 18. Tage p.T. fortgeführt. In der Zwischenzeit wurde die Ratte, ab dem 9. Tage p.T., täglich punktiert: über den gesamten Versuchszeitraum insgesamt 15 x.

In der FNB stiegen die neutrophilen Granulozyten in den ersten Tagen stark an. Ab dem 6. Tage p.T. waren sie nur noch mäßig erhöht, ebenso im Differentialblutbild. Im Inkrement stiegen sie bis zum 6. Tage p.T. an, fielen danach leicht ab. Die Lymphozyten waren in den ersten 12 Tagen der FNB deutlich erniedrigt. Im Verlaufe des Versuches erholten sie sich wieder. Im Blutbild normalisierten sie sich ab dem 5. Tage, nach anfänglich nur mäßigem Anstieg. Die Monozyten waren in der FNB bis zum 21. Tage erhöht. Ab dem 30. Tag normalisierten sie sich wieder. Im Differentialblutbild zeigte sich ein nicht ganz so hoher Anstieg. Das Inkrement hatte 2 Maxima am 6. und 15 Tag, ansonsten war es normal. Die eosinophilen Granulozyten stiegen in der FNB bis zum 9. Tage leicht an. Der weitere Verlauf gestaltete sich wie das Differentialblutbild und Inkrement unauffällig. Die Makrophagen waren bis zum 9. Tag in der FNB erhöht und stiegen nochmals am 21. Tage an. Ansonsten lagen sie um 0.

3.5. STATISTIK:

Für die Statistik wurde die Rang-Varianz-Analyse für unabhängige Stichproben (Kruskal-Wallis) herangezogen. Sie vergleicht die Gruppen in den ersten 9 Tagen und bis zum 30. Tage p.T. gegeneinander, in Bezug auf den Verlauf der einzelnen Zellarten. Als erstes erhält man einen H-Wert, der einen globalen Unterschied aufzeigt, ferner einen Z-Wert, der die einzelnen Gruppen direkt vergleicht. Um die Signifikanz zu erhalten, werden die Werte in Tabellen nachgesehen. Als

Schwellenwert für die Signifikanz gilt 5 %. Daraus resultiert:

1. - 9. Tag p.T. (Tab. 15)

Ein signifikanter Unterschied der Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten bestand zwischen Gruppe I und II mit Gruppe III und IV. Keine Differenzen bei den Lymphozyten gab es zwischen Gruppe III und IV.

Die Monozyten waren signifikant im Vergleich der Gruppen I und II mit Gruppe III. Gruppe II und III unterschieden sich von Gruppe IV nicht.

Ebenso zeigte sich bei den eosinophilen Granulozyten eine Signifikanz im Vergleich der Gruppe I und II mit Gruppe III, ebenso der Gruppe II und III mit IV.

Die Makrophagen fielen durch eine Signifikanz im Vergleich der Gruppe I mit II mit Gruppe III, zusätzlich Gruppe I und IV auf.

10. - 30.Tag (Tab. 15):

Bei den neutrophilen Granulozyten zeigte sich im Vergleich der Gruppe I mit II und IV, II und III mit der Gruppe II und IV ein signifikanter Unterschied. Die Lymphozyten waren nur im Vergleich der Gruppe I mit II und II mit IV signifikant unterschiedlich. Die Monozytenzahlen stiegen unauffällig. Die eosinophilen Granulozyten unterschieden sich im Vergleich der Gruppe I mit II und IV, die Makrophagen zusätzlich im Vergleich der Gruppe II und IV signifikant.

Tab. 15: Ergebnisse der Rang-Varianz-Analyse für unabhängige Stichproben nach Krustal-Wallis, p-Werte (%) für die globalen Unterschiede der Gruppen (H-Wert) und für die einzelnen Gruppenvergleiche (lineare Kontraste nach Dunns, Z-Werte) in Bezug auf die Verläufe der einzelnen Zellarten (Schwellenwert = 5 %)

1. - 9. Tag p.T.							10. - 30. Tag p.T.						
Zellen/ Gruppen	Seg	Ly	Mo	EO	MØ		Seg	Ly	Mo	EO	MØ		
I - II	20	50	20	10	0,01		0,5	1	20	0,002	0,01		
I - III	0,03	0,1	1	0,002	0,01		/	/	/	/	/		
I - IV	0,02	0,1	20	5	0,01		0,01	20	30	0,002	0,5		
II - III	5	0,05	0,01	2	0,002		/	/	/	/	/		
II - IV	2	0,05	0,2	50	50		1	0,01	50	50	0,2		
III - IV	50	0,05	10	0,01	/		/	/	/	/	/		
H - Wert	15	10	20	20	0,5		0,25	10	85	1	0,5		

3.6. KOMPLIKATIONEN DER NARKOSE UND FNB

23 Tiere erhielten insgesamt 289 Narkosen. Ein Versuchstier starb an den Folgen einer Überdosis Äther. 20 Ratten wurden 26 x, unter Äthernarkose, biopsiert, davon starb eine Ratte an den Biopsiefolgen. Sie wurde 16 x täglich punktiert. Todesursache waren nach histologischem Befund mutiple Leberabszesse. Ferner ergab sich makroskopisch und mikroskopisch bei nur Feinnadel punktierten Tieren nach 60 Versuchstagen und 17 Punktionen folgendes Ergebnis: Regelmäßig angeordnete Hepatozytenbälkchen ohne Zellnekrosen. Portale Felder schmal und minimal von Lymphozyten infiltriert; subkapsulär, mehrfach kleinere, demarkierte Bezirke mit Einblutungen und Nekrosen (Stichkanal); keine Cholangitis erkennbar; vereinzelt alte Mikrothromben, Leberkapsel mit Fettgewebe verwachsen und mit chronisch granulierten, vernarbten Entzündungen durch PE.

4. DISKUSSION

4.1. Grundlagen des Experimentes

4.1.1 Operationstechnische Probleme:

a) Narkose: Die Lebertransplantation wurde in Äthernarkose durchgeführt. Von den 25 Versuchstieren starb ein Tier an den Folgen der Narkose. Ursache war eine Atemdepression mit Kreislaufstillstand. Diese Schwierigkeiten entstanden durch Benutzen von Äthermasken, wodurch die Narkose schlecht steuerbar war. Neben der Transplantation mußte ständig die Narkose anhand der Atem- und Herzfrequenz beobachtet werden. In manchen Fällen mußte reanimiert werden. Die Verträglichkeit des Äthers wurde anhand von Gewichtsverläufen (Kurve 2) kontrolliert. Von 5 nicht transplantierten Ratten (Gruppe 0) überlebten 4 Tiere den 60-tägigen Versuchszeitraum. Das Gewicht nahm durch die Narkoseeinwirkung und den Streß um 17 % ab. Ab dem 5. Tag war das Tief überwunden.

b) Transplantation: Ca. 20 von 26 transplantierten Ratten überlebten aus operationstechnischen Gründen keine 72 Stunden. Sie konnten deswegen nicht in die Versuchsreihe aufgenommen werden. Zur Ursachenklärung wurden die Tiere post mortem histologisch untersucht. Hauptursachen waren: Verblutungen und Ischämien, Kreislaufstörungen bei Freigabe der Pfortader, Traumatisierung der Leber, Konservierung und Perfusion und Gallenabflußstörungen.

Hauptsächliche operationstechnische Todesursachen dieser Versuchsreihe waren Blutungen durch undichte Anastomosen oder Nahtinsuffizienzen. Häufig wurden auch histologisch anämische Leberparenchymnekrosen gefunden. Grund waren meistens Thrombosen in den portalen Anastomosen.

Die Freigabe der Pfortaderdurchblutung führte intraoperativ zu kritischen Kreislauftsituationen, bedingt durch Hypertonie und Rhythmusstörung. Folge während der Transplantation waren

akuter Herzstillstand. Durch die Substitution von 5 ml heparinisierter, humaner Plasmaproteinfraction konnte in diesem Fall der Kreislauf stabilisiert werden. Auf Elektrolytverschiebungen und auf eine metabolische Azidose, die durch eisgekühlte Leberperfusion oder durch angestautes Mesenterialblut entstanden, konnte in diesem Experiment nicht eingegangen werden. Eventuell auftretende Gerinnungsstörungen wurden prophylaktisch mit Heparin und Konaktion unterbunden.

Weitere operationstechnische Probleme bereitete besonders die Traumatisierung der Leber während der Explantation. Nur mit erhöhter Achtsamkeit und vorsichtigem Präparieren konnten Drucknekrosen, Gewebsschädigungen und Durchblutungsstörungen umgangen werden. Entscheidend vor allem für die Überlebenschance war die orthotope Lage der Leber, die Transplantationszeit und die Unterbrechung des portalen Kreislaufes. Bei letzterem führte eine Dauer von mehr als 26 min. zum Tode der Versuchstiere (28). Durch Weglassen eines portojugulären Shunts (55), konnten in diesem Versuch die Überlebenschancen deutlich erhöht werden.

Die Konservierung des Lebertransplantates führte in unserer Versuchsreihe zu keinen Komplikationen. Die Leber wurde bei 4 Grad C. in einer Ringer-Laktat-Lösung ca. 1 Stunde aufbewahrt. Zuvor wurde sie mit einer Plasmaproteinfraction perfundiert. Solche Kurzperfusionen erlangten eine 10-stündige Konservierung ohne größeren Funktionsverlust. Temperaturabhängige Stoffwechselprobleme und zelluläre Schäden, die durch Abkühlung und Wiedererwärmung entstehen, wurden nicht beobachtet (60). Die deutliche Erhöhung der Transaminasen und des Bilirubins im Serum kann nicht darauf zurückgeführt werden. Generell kann gesagt werden, daß bei der Regenerationsfreudigkeit der Leber die Konservierung in jeder Versuchsreihe gut toleriert wurde (9).

Die in der Literatur häufig beschriebenen Gallenabflußstörungen (67) auf Grund der Rekonstruktion des Gallenganges konnten in diesem Experiment durch eine End zu

End Anastomose des Choledochus via eines Teflonkatheters behoben werden (62). In der Histologie der untersuchten Lebertransplantate konnten deswegen auch keine Gallengangsverschlüsse festgestellt werden. Bei allen transplantierten Versuchstieren wurde eine entzündliche Infiltration von Lymphozyten und Granulozyten festgestellt. Sie nahm ihren Ausgang entweder von den portalen Feldern oder den Gallengängen. Als Ursache sind Konservierung, Gallenrückstau und immunologische Schädigung zu diskutieren (54). Bei isogen transplantierten Ratten, die länger als 30 Tage lebten, fiel ein zirrhotischer Umbau mit vermehrter Gallengangsproliferation auf. Im Gewichtsverlauf zeigte sich lediglich ein Absinken von 8 % am 6. Tag. Bis zum 21. Tag hatte sich dieses wieder erholt. Die Ursache ist im Zusammenhang mit dem operativen Eingriff zu sehen.

Die allogenen transplantierten nicht behandelten Ratten hatten eine durchschnittliche Überlebenszeit von 12 Tagen. Ihr Gewichtsverlauf (Ku.2/Gruppe II) sank kontinuierlich bis zum Exitus ab. Sie verloren bis zu 25 % ihres Ausgangsgewichtes. Tod und Gewichtsverlust sind durch die Folgen der akuten Abstoßung zu begründen.

4.1.2 Immunologie der Ratte:

Der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) wurde von Snell et al. 1953 zum ersten Mal beschrieben (46). Es ist ein komplexes Gensystem, dessen Produkte auf der Zelloberfläche als Antigene liegen. Es bestimmt die Zelloberflächenstruktur und kontrolliert die immunologischen Funktionen. Der MHC ist zum Teil aus Zonen aufgebaut, die durch genetisches Crossing over abgegrenzt mindestens ein Marker locus besitzt. Loci sind wiederum Teile eines genetischen Codes, die bestimmte Polipeptidketten determinieren. HLA-A, -B und -C zusammen sind 3 Zonen des MHC Class I. HLA-A allein ist Subzone. Sie wird anhand ihrer Funktionen und ihren Loci benannt. Zonen verschiedener Spezies, die durch ihren genetischen Ursprung und/oder Funktion verwandt sind, werden in Klassen

eingeteilt. Das heißt, daß sich Gene gleicher Klassen bei unterschiedlichen Spezies ähneln können. Gene der Klasse I -SD-Antigene- (2), induzieren die Produktion von Antikörpern, Effektorzellen und die Proliferation von Lymphozyten. Auf den Genen der Klasse II (LD-Antigene) wurden hauptsächlich Ia-Antikörper, MLR-Antigene, Immunantwort und H-Antigene nachgewiesen. Gene der Klasse HLA-C kontrollieren Komplementkomponenten (29). Die biologische Funktion, besonders der Gene der Klasse I und II beruht in der Erkennung körpereigener Zellen, in der gegenseitigen Erkennung und in der Selbsterkennung.

HLA-A, B und C gehören zur Gruppe der SD-Antigene, welche den RT1a-Antigenen der Ratte entsprechen. Diese Antigene gehören zu den klassischen Transplantationsantigenen. Sie sind nachweisbar auf Leukozyten, Erythrozyten, Thrombozyten, Spermatozyten und im Gewebe (Milz, Lunge, Darm, Niere, Herz usw.). Sie unterteilen sich auf den einzelnen Loci in bestimmte Anzahlen von Spezifikationen - Locus A ca. 20, Locus B ca. 15, Locus C ca. 5. HLA-D-Antigene stimulieren die gemischte Leukozytenkultur. HLA-DR-Antigene sind nachweisbar auf Lymphozyten, Makrophagen und Endothelzellen. Beide zusammen als HLA-D und DR entsprechen der RT 1-B-Zone der Ratte. Eine Inkompatibilität in diesem System führt zur Abstoßung des Transplantates.

Die verschiedenen RT1-Loci sind jeweils mit einem einzigen Allel besetzt. Durch Kombination dieser Allele entstehen die einzelnen Haplotypen. Nach Palm (41) wird jeder Haplotyp durch eine "private" und durch eine "allgemeine" Spezifität charakterisiert. Als letztere werden jene Antigene bezeichnet, die bei mehr als einem Haplotyp nachweisbar sind. Die RT1-A-Zone kodiert für die klassischen Transplantationsantigene wie SD-Antigene, ferner für Zelloberflächenantigene, die gemischte Lymphozytenreaktionen hervorrufen. Diese Zone kontrolliert auch den Migrations Inhibitions Faktor.

Die RT1-B-Zone, welche bisher noch nicht so gut erforscht ist, determiniert Zelloberflächenantigene mit beschränkter Gewebsverteilung. Zu dieser zählen die Ia-Antigene. Man findet sie auf Zelloberflächen von B-Lymphozyten und Subgruppen. Ihre Funktion beruht sowohl auf der Immunisierung als auch auf den Abstoßungsreaktionen und der Beeinflussung der MLR. Ferner stellen sie die genetische Kontrolle der Immunantwort der Ratte dar. Dazu gehört ebenso das R-Gen, welches, MHC gebunden, für die Erkennung, Affinität und Spezifität des Antigens zuständig ist. Man nimmt an, daß es die T-Lymphozyten beeinflusst. Anders das Q-Gen, dieses beeinflusst die B-Lymphozyten und ist verantwortlich für die Höhe der Antikörperbildung (8). Einen Defekt des R-Gens macht man für schwache Antikörperbildung verantwortlich (8).

Die RT1-C-Zone besitzt neben dem H-C-Locus noch zusätzlich Gene, die für die Determinierung von Zelloberflächenantigenen, z.B. Ca-1 auf peripheren T-Zellen und Ca-2 auf Subpopulationen von B-Zellen, zuständig sind (23).

Neben dem Haupthistokompatibilitätskomplex gibt es noch den schwachen Histokompatibilitätskomplex. Durch einige zusätzliche und abgegrenzte Loci determiniert dieser andere Oberflächenantigene, die auch als schwache H-Antigene bezeichnet werden. Sie sind in erster Linie für chronische Abstoßungen verantwortlich. Daneben bestehen noch RT-Ly-2-Antigene (56). Außerhalb des starken und schwachen MHC's gibt es weitere MHC abhängige Immunantwortgene, die trotz Kompatibilität im MHC zu Antikörperreaktionen führen. Meistens sind es synthetische Polipeptide z.B. GLT. Es muß erwähnt werden, daß hier wiederum die Erkennung als Antigen von Struktur, molaren Verhältnissen, sowie Ladung und Konformation der einzelnen Aminosäuren abhängt.

Der Einfluß des MHCs auf Transplantataakzeptanz hängt nicht alleine von diesen obengenannten Faktoren ab. Zusätzlich für humorale und zelluläre Reaktionen sind die

Transplantationsrichtung, in diesem Fall DA-Leber auf BN-Empfänger, als auch die Art des transplantierten Gewebes (Haut oder Leber) ausschlaggebend. Weitere Aspekte für die Abstoßungsreaktion sind die vorherige Immunisierung und unterschiedliche Verteilung von gewebsspezifischen Antigenen. Ferner sind Ort der Implantation und Größe des Organs, sowie Konservierung und operative Schädigung des Transplantates von Bedeutung. Die Leber zeigt bei allogenen Transplantationen akute und chronische Abstoßungen, aber auch Organtoleranz. Letztere wird in der Literatur als systemische Nichtantwortfähigkeit beschrieben (5, 25, 36, 42). Bei Transplantation von Hepatozyten hat der MHC eine geringere Bedeutung (35).

Einige dieser obengenannten Kriterien spielen eine wichtige Rolle für die Auswahl der Rattenstämme in diesem Experiment. So z.B. unterscheiden sich die BN- und DA-Rattenstämme in ihrer "allgemeinen" und "privaten" Spezifität. Dieses wird besonders deutlich bei den Ia-Antigenen: BN-Stämme besitzen hier 3 ihrer "privaten" Spezifitäten, während die DA-Stämme 14 oder 15. Weiter ist bekannt, daß BN-Stämme nur eine einzige Spezifität mit anderen Rattenstämmen gemeinsam haben, DA-Ratten dagegen haben fünf. Beide Stämme stellen eine starke inkompatible Kombination dar und sind deshalb antigen. Eine gegenseitige Immunisierung mit Gewebe führt zu einer Antikörperbildungen und einer hyperakuten Abstoßung.

Organspezifische Aspekte der Leber (56):

Verschiedene Gewebe können bei gleicher immungenetischer Differenz zwischen Spender und Empfänger Immunreaktionen sehr unterschiedlicher Stärke hervorrufen. Bei vielen Versuchstierspezies besteht eine starke Differenz in der Abstoßung von Haut einerseits und einer Reihe parenchymatöser Organe wie Niere, Leber und Herz andererseits. Von besonderem Interesse sind Unterschiede zwischen verschiedenen parenchymatösen Organen. Sowohl bei der Ratte als auch beim Schwein erscheinen Lebertransplantate weniger der Abstoßung

zu unterliegen als Nierentransplantate. Lebertransplantate überleben vielfach sogar ohne jede immunsuppressive Therapie (10, 62).

Organspezifische Differenzen in der Auslösung von Immunreaktionen müssen unter dem Gesichtspunkt einer möglichen Divergenz von Antigenizität und Immunogenität, sowie der vielfältigen Erklärungsmöglichkeiten hierfür gesehen werden. Neben Passenger-Zellen, Monozyten und Zellen der Makrophagenreihe (Kupffersche Sternzellen der Leber) könnten hier unter Umständen auch Differenzen der Organstruktur (Fehlen von Endothelzellen in den Sinusoiden der Leber) und Unterschiede in der Expression von MHC-Antigenen auf den Parenchymzellen eine Rolle spielen (20, 21). Ein weiterer Faktor, dessen Bedeutung derzeit nur sehr schwer abzuschätzen ist, könnten organspezifische Antigene sein. Neben Differenzen der Immunogenität, die durch die Antigenausstattung des Transplantates und durch eine zelluläre Struktur bedingt sind, müssen in diesem Zusammenhang weitere Komplexfaktoren mit in Betracht gezogen werden. So spielt eine wesentliche Rolle, ob ein Transplantat primär, sekundär oder überhaupt nicht vaskularisiert ist und ob eine Verbindung zu den Lymphgefäßen des Transplantatbettes besteht oder nicht. Ein extremes Beispiel dafür, daß ein permanentes Transplantatüberleben nicht eine verminderte Immunogenität des übertragenen Gewebes, sondern eine Besonderheit bestimmter anatomischer Transplantatlokalisationen darstellt, bietet das Phänomen des privilegierten Ortes.

Für das Ergebnis einer einmal ausgelösten Immunreaktion dürften weiterhin auch eine unterschiedliche Empfindlichkeit verschiedener Organe gegenüber dem immunologischen Schädigungsmechanismen und zusätzlich die Reaktion des Gefäßsystems eine Rolle spielen. So sind Gewebnekrosen bei reaktiver Ischämie nicht auf direkte immunologische Prozesse zurückzuführen. Nach begrenzter Schädigung spielen wiederum organspezifische Unterschiede der Regenerationsfähigkeit eine

Rolle. Bei allogenen Nierentransplantationen zeigten Ratten regelmäßig Abstoßungsreaktionen, die jedoch nicht zur vollständigen Zerstörung führten und insgesamt reversibel waren, sofern durch Funktionseinschränkung eines Allotransplantates keine Insuffizienz hervorgerufen wurde.

4.1.2.1 Immunologische Besonderheiten der Leber:

Die Immunreaktion gegen ein allogenes Lebertransplantat verläuft im Vergleich zu anderen Organtransplantaten abgeschwächt (5). Langes Transplantatüberleben ist ohne Immunsuppression möglich, obwohl als Ausdruck einer Immunreaktion zum Teil erhebliche morphologische Veränderungen mit fibrotischem Umbau und zentrilobulärer Cholestase gefunden werden (3, 45). Die Leber kann mit Einschränkung als immunologisch begünstigtes Organ bezeichnet werden (20, 21). Gründe hierfür sind noch nicht genau geklärt. Einerseits liegt es an unspezifischen immunsuppressiven Effekten lebereigener Faktoren (36) und an spezifischen zellulären Immunreaktionen (3), andererseits an einem verminderten Ia-Antigengehalt der Leberparenchymzellen (20, 21). Immunologische und morphologische Untersuchungen nach Lebertransplantationen mit bekannter Histokompatibilität haben jedoch gezeigt, daß auch bei allogener Lebertransplantation Abstoßungsreaktionen in typischer Weise und in Relation zum Grad der Histoinkompatibilität ablaufen (5, 52). Sie erreichen allerdings meist nicht die akute destruierende Heftigkeit, wie sie bei allogener Nierentransplantation beobachtet wird (38). Dementsprechend neigt man dazu, die immunsuppressive Behandlung nach einer Lebertransplantation niedriger als nach einer Nierentransplantation zu dosieren.

4.1.2.2 Immunsuppression (23):

Die Immunsuppression ermöglicht ein verlängertes Überleben von Allotransplantaten. Hierfür sind spezielle Subpopulationen von Lymphozyten verantwortlich. Sie beeinflussen die Interaktion zwischen Effektorzellen, Helferzellen, Suppressorzellen und

Makrophagen. Die stärkste Reglerfunktion fällt den T-Lymphozyten zu. Sie unterteilen sich bei der Ratte in Ly-1-Zellen (Helferzellen) und Ly-2,3-Zellen (Suppressorzellen). Den thymusabhängigen Ly-1-Zellen unterliegt die Förderung von antikörperproduzierenden B-Lymphozyten, Makrophagen und Subpopulationen der T-Lymphozyten. Im Gegensatz zu den Ly- 2, 3 Zellen, welche hauptsächlich in den Lymphknoten vorkommen, sind sie in Milz und Knochenmark nachweisbar. Zwischen beiden Zellgruppen entstehen gemischte Lymphozytenreaktionen. Ly- 1-Zellen stimulieren die Ly- 2,3 Zellen in ihrer zytotoxischen Fähigkeit (17). Ferner stimulieren sie die Antikörperbildung von B-Lymphozyten. Ein Mangel oder zu geringe Aktivierung führt zur Nichtantwortfähigkeit gegen Allotransplantate (52). Ein auslösendes Potential zur Aktivierung ist nicht allein der MHC, sondern auch andere Formen von Stimuli z.B. Thrombozyten - sie tragen Class I Antigene -. Ferner nimmt man an, daß Suppressorzellen für spezifische Rezeptoren auf B- und/oder T-Lymphozyten Faktoren sezernieren, die zu einer Verlängerung der Transplantatannahme beitragen.

Die pharmakologische Immunsuppression hat verschiedene Angriffspunkte. Einerseits setzen Medikamente die Reaktivität des Empfängers auf Antigene herab, andererseits greifen sie spezifisch in die Immunantwort ein. Kortison, Ganzkörperbestrahlung, Azathioprin (Imurek) und Ciclosporin beeinflussen die T-Lymphoyten und deren Subpopulationen.

4.1.2.3 Ciclosporin (4): Seine Wirkung beruht auf einer selektiven Hemmung der Helfer-Zellen und betrifft die Interaktion von T-Lymphozyten und mit diesen über die Interleukin 2 Produktion. Dadurch werden besonders bei Haut-, Herz- und Nierentransplantationen die Überlebenszeiten verlängert. Bei Lebertransplantationen an Ratten bedarf es einer 28-tägigen Dosis um eine unbegrenzte Organtoleranz zu erzielen (66). Wechselwirkung mit anderen Medikamenten sind kaum bekannt.

Nebenwirkungen: Im peripheren Blut ist eine Lymphopenie mit progressivem Anstieg der zirkulierenden, neutrophilen Granulozyten und Monozyten aufgefallen, ferner das Auftreten von atypischen mononukleären Zellen (4). Außerdem steigt die alkalische Phosphatase und das gesamte Bilirubin im Serum an. Die Leber erscheint zentrilobulär, mäßig verfettet, das endoplasmatische Retikulum gering delatiert (4). Besonders auffällig ist die zunehmende Körperbehaarung auch bei Ratten. Auf die Niere wirkt Ciclosporin nephrotoxisch. Die proximalen Tubuluszellen sind vakuolisiert und nekrotisiert, hingegen bleiben die Glomeruli und distalen Tubuluszellen unberührt (4). In Folge der verminderten Nierenfunktion steigt im Serum Harnstoff und Kreatinin. Im Knochenmark zeigt sich eine Myelotoxizität (4). Durch nephrotoxische Effekte ist eine eingeschränkte Nierenleistung kontraindizierend für eine Therapie mit Ciclosporin.

In dieser Versuchsreihe wurden 6 allogentransplantierte Ratten mit Ciclosporin behandelt. Der klinische Verlauf wurde anhand der Gewichtskurve verfolgt. Trotz immunsuppressiver Therapie sank das Gewicht bis zum 14. Tage p.T. Diese Situation ist durch den operativen Eingriff und durch die entzündliche Reaktion der Leber erklärbar. Die anschließende Erholungsphase entsprach der CSA-Wirkung. Dieses bestätigen auch die nichtpathologischen Laborwerte. Das makroskopisch gering vergrößerte ödematöse Transplantat wies auf eine noch leicht bestehende Entzündung hin, die auch histologisch nachweisbar war. Absetzen von CSA ab dem 30. Tage p.T. führte zu keiner Verschlechterung der klinischen Parameter.

In einem Auslaßversuch wurde CSA am 5. p.T. abgesetzt. Die Gewichtskurve verlief wie bei allen anderen Versuchstieren dieser Gruppe. Die folgende Abstoßungsreaktion war unter erneuter CSA-Therapie reversibel. Somit konnte gezeigt werden, daß CSA in der Lage ist, wiederholte Abstoßungsreaktionen erfolgreich zu therapieren. Mit Hilfe der FNB konnte sowohl die AR als auch der Erfolg der Therapie verfolgt werden.

4.1.3 Feinnadelbiopsie:

Die Feinnadelbiopsietechnik kann zur Beobachtung von inflammatorischen Episoden in der Lebertransplantation bei Ratten verwendet werden. Die Komplikationsrate ist im Vergleich zu herkömmlichen Methoden wesentlich geringer. Neben den inflammatorischen Abläufen ist es der FNB möglich, degenerative Zellveränderungen, Akkumulationen von Bilirubin (Cholestasis) und die Deposition von Ciclosporin in den Hepatozyten zu beobachten (31). Ihre Ergebnisse decken sich mit den histologischen Befunden. Allerdings lieferte die FNB bisher nur Ergebnisse, wenn es sich um zelluläre AR handelte. Eine schnellverlaufende, humorale Reaktion zu erkennen ist ihr jetzt noch nicht möglich.

4.1.3.1 Methodische Probleme:

Zunächst ergaben sich in den Vorversuchen Probleme aus der relativen Dicke der Kanüle im Vergleich zur Rattenleber. Im weiteren Verlauf erschien eine Kinderspinalnadel vom Typ Becton & Dickinson 25-6 als geeignet, da durch sie entsprechendes Material gewonnen werden konnte und die Nachblutungsgefahr gering war. Histologisch zeigten sich nach 18 Punktionen in 65 Tagen bei nichttransplantierten Ratten weitgehend organisierte Leberparenchymnekrosen entsprechend dem Stichkanal. Ferner ergab sich aus dem kleinen Areal, in welchem die Leber punktiert werden sollte, Schwierigkeiten. Eine ungenaue Lagebestimmung führte in Vorversuchen zu Perforationen der Nachbarorgane. Entsprechende Folgen entstanden auch durch zu große Punktionstiefe und falsche Richtung. In den Hauptversuchen traten wegen der entsprechenden Handhabung keine Komplikationen mehr auf. Lediglich durch häufiges Punktieren bestand die Gefahr in bereits traumatisiertes Gewebe zu gelangen. Derartige Komplikationen konnten in unserem Versuch nicht festgestellt werden, ebenso wenig eine sich daraus resultierende Verfälschung des zytologischen Bildes.

Die Aufbewahrung und die Weiterverwertung des gewonnenen

Materials war problemlos.

Gewisse Schwierigkeiten ergaben sich bei der Auswertung. Bei der Einordnung der zu beurteilenden Zellen machte die Unterscheidung von Monozyten und großen Formen der Lymphozyten zunächst Schwierigkeiten.

Kupffersche Sternzellen und Gallengangepithel konnten nicht definiert werden. Auch durch Phagozytose von Staphylokokken oder Tusche war eine eindeutige Differenzierung nicht möglich.

4.1.3.2 Komplikationen der FNB:

Im Gegensatz zur offenen Schnittbiopsie gab es bei der FNB sehr wenig Komplikationen.

Histologisch sah man an der laparotomierten Leber bei nichttransplantierten BN-Ratten weitgehend organisierte Parenchymnekrosen nach FNB. Durch die häufige Punktion polifizierte das Serosadeckepithel der Leberkapsel. Darüber entstanden Verwachsungen durch Fibrinausscheidungen. Im Lebergewebe selbst waren die Leberzellbälckchen regelmäßig geordnet und die portalen Felder nicht verbreitert. Es gab keine Hinweise auf entzündliche Veränderungen oder eine Cholangitis. Komplikationen entstanden nur durch unsachgemäßes Vorgehen.

In dieser Versuchsreihe starb 1 Tier an multiplen Leberabzessen als Folge der FNB. Durch obenerwähntes Vorgehen konnte diese Komplikation unterbunden werden.

Die allgemeine Verträglichkeit der täglichen FNB bei den Versuchstieren wurde anhand des Gewichtsverlaufes kontrolliert (Kurve II, Gruppe I).

Das Gewicht sank bis zum 2. Tage um 6 %, danach zeigte sich eine deutliche Erholung. Streßfaktoren wie Narkose und FNB waren die Ursache, wobei ersteres überwiegte.

4.2. Interpretation der Feinnadelbiopsieergebnisse:

4.2.1 Nichttransplantierte BN-Ratten (Gruppe I):

Diese Gruppe diente als Kontrolle für Differentialblutbild, FNB und Inkrement. Die Histologie bestätigte und begründete die beobachteten Zellverläufe. Kurz sei wiederholt: Inkrement, Differentialblutbild und FNB verliefen bis zum 15. Tag parallel. Das Zellbild wurde von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten und Monozyten bestimmt. Monozyten und neutrophile Granulozyten wechselten sich ständig ab.

Die Leukozytose und Monozytose war vermutlich durch die FNB bedingt. Es könnte sich hier um eine Phagozytose der Nekrosebezirke im Stichkanal handeln. Histologisch zeigten sich dichte Granulozytensäume um die betroffenen Bezirke, die dafür sprechen würden. Die anfänglichen Schwankungen und der kurze Wechsel von Leukozyten und Monozyten standen im Zusammenhang mit der täglichen FNB. Nachdem sich die zeitlichen Abstände der Punktionen vergrößerten, verringerte sich auch die Traumatisierung des Gewebes. Entsprechend sanken die Zellanteile in der FNB. Der kontinuierliche Anstieg der eosinophilen Granulozyten ist in Verbindung mit der Punktion zu sehen. Da das periphere Blut keine Anhäufung dieser Zellpopulation zeigte, nimmt man an, daß diese Zellen aus der Bauchhöhle in das Aspirat gelangten. In diesem Zusammenhang erschienen auch zahlreiche Histiozyten in der FNB. Eine Lavage bestätigte eine gehäufte Anzahl von Histiozyten und eosinophilen Granulozyten in der Bauchhöhle. Eine zweite Möglichkeit, daß durch die Markierungsfarbe an der Punktionsnadel allergische Gewebsreaktionen hervorgerufen werden konnten, ist unwahrscheinlich. Dagegen spricht ebenfalls das normale Blutbild und der histologische Befund, in dem keine Eosinophilie festgestellt werden konnte.

Die Abnahme von Lymphozyten in FNB und peripherem Blut ist in Relation zum Anstieg der oben erwähnten Zellpopulationen zu sehen. Die darauffolgende Normalisierung ist auf den Rückgang dieser Zellen im Rahmen einer Erholungsphase zurückzuführen. Aus dem Versuchsverlauf resultiert, daß die FNB nur lokale Nekrosen durch den Stichkanal hervorruft und nicht zu entzündlichen Veränderungen führt. Dieses deckt sich in ihrer Aussage mit dem histologischen Befund.

4.2.2 Isogen transplantierte BN-Ratten (Gruppe II):

Diese Gruppe diente zur zytologischen Verlaufskontrolle bei isogenen Lebertransplantationen. In FNB und Differentialblutbild herrschten Granulozyten und Monozyten vor.

Neutrophile Granulozyten:

Im Vergleich zur Kontrollgruppe fiel ein deutlicher Anstieg dieser Zellgruppe in FNB und peripherem Blut auf. Dies könnte als eine Reaktion auf den operativen Eingriff erklärt werden. Da aber eine ständige Erhöhung über die gesamte Versuchsdauer beobachtet wurde, muß an ein chronischer Umbauprozess der Leber angenommen werden. Histologisch wurde dies bestätigt. Es zeigten sich nämlich Einzelzellnekrosen mit fibrotischem Umbau der Leber.

Lymphozyten:

Durch die fortwährende und deutliche Lymphopenie sowohl in FNB als auch im Blut unterschied sich diese Zellpopulation von den übrigen. Diese Abnahme stand im Zusammenhang mit der Zunahme der anderen Zellen.

Monozyten:

Diese waren über den gesamten Versuch wesentlich erhöht. Wobei die Anzahl in der FNB größer war. Dies würde einer Abwanderung von Monozyten in nekrotische Bezirke der Leber entsprechen. Die dauernde Erhöhung im Gewebe erklärt sich durch den chronischen Ab- und Umbau des Leberparenchyms.

Makrophagen:

Diese Zellpopulation trat zum ersten Mal in Erscheinung. Es konnte nicht herausgefunden werden, ob es sich um Kupffersche Sternzellen oder um ins Gewebe abgewanderte Monozyten handelt, die sich später in Monozyten umgewandelt haben. Ihr deutlicher Anstieg bis zum 4. Tage p.T. ist durch den operativen Eingriff erklärbar, die mäßige Erhöhung im

weiteren Verlauf durch den chronischen Nekroseabbau.

Eosinophile Granulozyten:

Die aspirationszytologisch beschriebene Eosinophilie in der Kontrollgruppe konnte bei den isogen-transplantierten Ratten ebenfalls beobachtet werden. Da das Blutbild unauffällig war, spricht dieser Befund eher für eine Aspiration aus der Bauchhöhle.

Inkrement:

Das Inkrement der isogen-transplantierten Ratten fiel über den ganzen Versuchsverlauf deutlich höher aus. Ursache dafür sind die entzündlichen Reaktionen auf den operativen Eingriff. Die höheren Werte am 1. Tage p.T. würden dafür sprechen. Der weitere Anstieg ist durch das erstmalige Auftreten von Makrophagen bedingt. Ihre Anwesenheit weist auf Abbauprozesse im Transplantat hin. Der allmähliche Abfall des Inkrements im Verlaufe des Versuchs ist gleichzusetzen mit der Regeneration des Leberparenchyms. Die nicht vollständige Normalisierung der Werte ist auf den fibrotischen Umbau zurückzuführen. Im wesentlichen bestimmten die Makrophagen die Höhe des Inkrements.

Histologie:

Histologie und FNB zeigten einen chronisch entzündlichen Verlauf. In der FNB äußerte sich dies durch die ständige Erhöhung inflammatorischer Zellen. Eindeutige Ergebnisse diesbezüglich ergaben sich jedoch nur aus dem histologischen Befund. Hinweise für einen chronischen Umbauprozess der Leber ergaben sich in der FNB durch das Auftreten von Makrophagen. Ebenso spricht dafür, daß sie im Vergleich zur Kontrollgruppe zum ersten Mal in Erscheinung treten. Histologisch konnten sie jedoch nicht beobachtet werden, obwohl sie in der FNB deutlich erhöht waren. Die Frage ist, ob es sich hier um eingewanderte Monozyten handelt die sich schließlich zu Makrophagen umwandelten.

Klinisch bestätigt sich parallel zur Histologie und FNB eine

chronisch entzündliche Veränderung durch den alleinigen Anstieg der Transaminasen. Ursache war nicht eine Cholestase, da Bilirubin und die alkalische Phosphatase im Normbereich blieben (persönliche Mitteilung: Schmidt), sondern ein transplantationsbedingter Umbau der Leber. Die verlängerte Erholungsphase im Vergleich zu der Kontrollgruppe ist nicht auf die Traumatisierung durch die FNB zurückzuführen, sondern ist ursächlich durch die Transplantation und die chronische entzündliche Veränderung bedingt. Klinik, Histologie und FNB spiegeln diese Befunde wider.

4.2.3 Unbehandelte allogene transplantierte Ratten (Gruppe III)

In der Literatur konnte durch Verwendung gleicher Techniken gezeigt werden, daß der zelluläre Mechanismus der Transplantabstoßung bei der Ratte dem Ablauf der Abstoßung menschlicher Transplantate ähnlich ist. Auch in dieser Gruppe waren zu Beginn des Versuches über 70 % der infiltrierenden Zellen Lymphozyten. Doch zeigte sich im Verlauf ein weiteres Abstoßungsmuster, welches durch Monozyten bestimmt war. Dies führt zum Schluß, daß der Ablauf von immunologischen Reaktionen sicherlich komplexer ist als bisher beschrieben.

Neutrophile Granulozyten:

Der deutlich höhere Anstieg der neutrophilen Granulozyten ist in Verbindung mit der voranschreitenden Zerstörung des Transplantates durch die AR zu sehen. Auffallend im Vergleich zu den isogen-transplantierten Ratten ist die Kontinuität über den ganzen Versuchszeitraum. Eine Erklärung für die Zunahme ist im Rahmen der allgemeinen Abräumungsvorgänge zu sehen und steht in Relation zur Organschädigung.

Lymphozyten:

Die anfänglich erhöhte Lymphozytenzahl zeigt, daß auch in dieser Gruppe ein lymphozytäres Abstoßungsmuster besteht. Da keine Bestimmung der Subpopulationen möglich war, ist es schwer, Vermutungen über die Eigenschaften zu äußern. Möglicherweise handelt es sich in diesem Fall um eine sehr

rasch ablaufende Abstoßung durch zytotoxische T-Zellen innerhalb der ersten 3 Tage. Der anschließende Abfall muß in Relation zu Anstieg der Monozyten und neutrophilen Granulozyten gesehen werden. Ein Zusammenhang zwischen dem Abfall der Lymphozyten und Monozyten könnte immunologisch begründet sein. So daß durch die Zerstörung durch T-Zellen antigene Stoffe freigesetzt, werden die auf Monozyten einen anziehenden und aktivierenden Einfluß haben. Daraus würde eine zweite jedoch schwächere Abstoßungsreaktion resultieren.

Eosinophile Granulozyten:

Auf den Verlauf der Abstoßung zeigten die eosinophilen Granulozyten keinen Einfluß.

Monozyten:

Während bei den isogen-transplantierten Ratten der mäßige Anstieg und der folgende Abfall der Monozyten für eine geringgradige Organschädigung spricht, weist der deutlich höhere und kontinuierliche Anstieg in allogenen Transplantaten auf eine akute und massive Zerstörung des Gewebes hin. Die parallel verlaufende Verringerung im peripheren Blut zeigt einen starken Einstrom von Monozyten ins Gewebe. Das gleichzeitige Absinken der Lymphozyten könnte ein Hinweis auf eine Interaktion beider Zellpopulationen sein, so daß nach einer ersten lymphozytären Abstoßungsreaktion eine zweite schwächere durch Monozyten bedingt folgt. Möglicherweise könnten aus der Zerstörung von Gewebszellen durch T-Zellen Mediatoren freigesetzt werden, so daß Monozyten angezogen und aktiviert werden und es zu einer zweiten AR kommt.

Makrophagen:

Der Anstieg der Makrophagen gegen Ende der akuten Abstoßung spricht für eine zunehmende Gewebsschädigung. Ihre allmähliche Zunahme zeigt jedoch eine geringe Beteiligung einer akuten Abstoßung. Zusammen mit den Monozyten machen sie jedoch gegen Ende der Abstoßung 15 % der Gesamtzellzahl aus.

Es konnte nicht differenziert werden ob es sich um gewebständige Kupffersche Sternzellen handelt. Die sinkende Monozytenzahl im Blut würde eher für eine Umwandlung in diese bedeuten. Die ihnen dadurch zukommende immunologische Bedeutung wäre weiter abzuklären.

Inkrement:

Das Inkrement in dieser Versuchsreihe wird überwiegend von neutrophilen Granulozyten, Monozyten und Makrophagen bestimmt. Das Absinken gegen Ende der Abstoßung wird durch den Abfall der neutrophilen Granulozyten verursacht, welches mit einem Verbrauch von Granulozyten durch die Abräumungsprozesse erklärbar wäre. Die zwei Gipfel am 3. und 12. Tage p.T. sprechen für 2 Abstoßungsreaktionen, wobei die zweite schwächer abläuft und durch Monozyten bestimmt ist. So kann man den Schluß ziehen, daß die Stärke der ersten AR lymphozytär bedingt ist und die Schwäche der zweiten Reaktion durch Monozyten.

Histologie:

Die Histologie beschreibt bei den allogenen Transplantaten eine beginnende AR ab dem 3. Tage. Im Vergleich zur Zytologie ergeben sich Hinweise auf eine lymphozytäre Infiltration. Bei weiterer Begutachtung der inflammatorischen Zellen fanden sich vermehrt Plasmazellen. Dieses würde eher für eine humorale Komponente bei der AR sprechen. Solche Befunde stehen jedoch im Widerspruch zu bisherigen Erkenntnissen. Sie zeigen, daß in der Histologie eine genaue Differenzierung von Zellen und besonders von Subpopulationen der Lymphozyten nicht möglich ist. In der FNB konnte bereits sehr früh eine lymphozytäre Infiltration festgestellt werden. Ferner konnte in der Zytologie eine ansteigende Monozytose beobachtet werden, die die Histologie nicht beschrieb. Ursachen dafür ist die ungenaue histologische Differenzierung. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die Monozytose in der FNB könnte die Aspiration aus der Bauchhöhle sein. Dagegen spricht jedoch der kontinuierliche und signifikante Anstieg. Aus

diesen Befunden kommt den Monozyten sicherlich eine immunologische Komponente bei akuten Abstoßungen zu. Zusammen mit den Lymphozyten dienen sie als Kriterium zur Bestimmung einer Abstoßung in der FNB. So ist es durch diese zytologischen Befunde möglich eine AR der Leber vor der Histologie festzustellen. Außerdem konnte die FNB durch genauere Differenzierung von Zellen mehrere Abstoßungsreaktionen beobachten. Diese Erkenntnis führt zu der Annahme, daß mehrere Zellpopulationen an einer AR beteiligt sind. In diesen Beobachtungen ist die FNB den histologischen Standardverfahren überlegen.

Klinik:

Beim Vergleich der zellulären Information mit den klinischen Parametern muß man sagen, daß zunächst die erste Abstoßungsreaktion ohne die FNB nicht zu diagnostizieren gewesen wäre. Erst im weiteren Verlauf zeigte Gewichtsverlauf und Labor Übereinstimmung hinsichtlich der Transplantatschädigung. Somit kann durch die FNB die Diagnose einer sich anbahnenden AR eher gestellt werden als durch klinische und histologische Diagnostik.

4.2.4 Immunsuppressive behandelte allogentransplantierte

BN-Ratten:

Bisher konnte in Annäherung an die Literatur (30) gesagt werden, daß sich die inflammatorischen Ereignisse innerhalb des Lebertransplantates und den Parenchymzellen abspielen. Die Aspirationszytologie verdeutlichte dies in diesem Experiment durch wachsende mononukleäre Phagozytose und eine Leukopenie. LAUTENSCHLAGER und PEKKA HÄYRY beschreiben zwei differierende Phänomene von Inflammation, einerseits aus einer monozytären Phagozytose ohne Lymphoblasten, andererseits eine Inflammation mit deutlich immunologischer Komponente. Letzteres Phänomen entspricht der typischen Episode einer Abstoßung. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe waren durch das Auftreten lymphoider Zellen gekennzeichnet.

Neutrophile Granulozyten:

Die im Gegensatz zu den unbehandelten allogenen transplantierten Ratten auffallende Abnahme der neutrophilen Granulozyten ist in Relation zum Verhalten anderer Zellpopulationen zu sehen. Im gleichen Zeitraum findet ein Anstieg von Monozyten und Lymphozyten im Transplantat statt. Ferner ist es möglich, daß durch die immunsuppressive Wirkung das Organ weniger geschädigt wurde und keine Abstoßung erfolgte, die zur Organzerstörung führte. Im peripheren Blut ist zu Beginn nur eine leichte Erhöhung zu sehen. Die Diskrepanz von Blut zur FNB könnte durch Aspiration aus der Bauchhöhle oder durch Einwanderung entstehen. Jedenfalls zeigt sich durch die Normalisierung der neutrophilen Granulozyten eine verminderte Gewebsschädigung, die durch die Wirkung CSA bedingt ist.

Lymphozyten:

Unmittelbar nach der Operation fällt im Transplantat der signifikant niedrige Anteil von Lymphozyten auf. Dieses würde bedeuten, daß die immunsuppressive Wirkung von CSA unmittelbar einsetzt. Der gleichzeitig höhere Anteil im peripheren Blut könnte für eine selektive Unterdrückung mit vermehrter Bildung von Suppressorzellen sprechen. Da keine Bestimmung der Subpopulationen von Lymphozyten möglich war, ist es schwer Vermutungen über die Eigenschaften dieser Lymphozyten und deren Bedeutung zu äußern. Jedoch könnte das Auftreten von großen vacuolisierten lymphozytären Zellen ein Hinweis auf eine selektive Zerstörung von zytotoxischen T-Zellen sein. Ihr Erscheinen wurde bereits in der Literatur beschrieben und im Zusammenhang mit der Wirkung von CSA gesehen (4).

In einem Auslaßversuch wurde ferner gezeigt, daß die Lymphozyten in dieser Versuchsreihe keinen transplantatschädigenden Effekt hatten. Dies würde auch die Reversibilität der AR erklären. Die weitere Normalisierung der Lymphozyten in FNB und peripherem Blut ist nicht in Verbindung mit einer Toleranz des Transplantates. Auch nach

dem Absetzen von CSA am 30. Tag blieben die Lymphozyten im Normalbereich.

Eosinophile Granulozyten:

Während im Laufe der Abstoßung bei unbehandelten Ratten kein Einfluß auf den Prozentsatz der eosinophilen Granulozyten im Transplantat erkennbar war, fällt bei den behandelten Tieren ein höherer Anteil dieser Zellen auf. Ihr Erscheinen könnte mit dem vermehrten Vorhandensein von Antigen-Antikörperkomplexen in Verbindung gebracht werden. In der Literatur (33) wird eine Beteiligung der eosinophilen Zellen an der Phagozytose von Antigen-Antikörperkomplexen beschrieben. Davon ausgehend wären sie ein Hinweis auf eine humorale Beteiligung die jedoch nicht zu einer Abstoßung der Leber führt.

Monozyten:

Die monozytäre Infiltration verlief bei den CSA behandelten Ratten stärker als bei den Unbehandelten ab. Daraus würde resultieren, daß CSA keinen direkten Einfluß auf die Monozyten nimmt, sondern ausschließlich auf T-Lymphozyten und deren Subpopulationen. Ferner könnte man meinen, daß sie in der Gruppe der CSA behandelten Ratten keine entscheidende Rolle bei der akuten Abstoßung des Transplantates haben. Der höhere Anstieg dieser Gruppe würde dann bedeuten, daß es in Folge der supprimierten T-Lymphozyten zu einer verstärkten zweiten immunologischen Reaktion führt, die zu keiner entscheidenden Zerstörung des Transplantates führt. Andererseits könnten die zerstörten T-Lymphozyten Substanzen freisetzen die Monozyten aktivieren. Eine solche Interaktion von Lymphozyten und Monozyten wurde durch das Absetzen von CSA am 5. Tage p.T. deutlich. Denn auf den erneuten Anstieg der Lymphozyten folgten parallel auch die Monozyten. Ein erneuter, gleichzeitiger Abfall von Lymphozyten und Monozyten nach Wiederbeginn der immunsuppressiven Therapie bestätigt dies. Ob die Monozyten eine zusätzliche suppressive Wirkung auf die T-Lymphozyten haben oder nur ein humorales Geschehen

sind, bleibt offen. Hinsichtlich der Reversibilität und der Stärke der AR kommt ihnen keine Bedeutung zu. Dies resultiert aus der deutlich hohen Anzahl zu Beginn und der langen Anhaltphase, die zu keiner irreversiblen Abstoßung führte. Aus dem Verlauf der Monozyten im peripheren Blut könnte man unter Vorbehalt Rückschlüsse auf eine Abstoßungsreaktion ziehen. Denn im Vergleich zu den unbehandelten Tieren zeigte der parallele Verlauf zur FNB eine Nichtabwanderung ins Gewebe. Dies wäre folglich ein Zeichen für eine nicht ablaufende AR.

Makrophagen:

Die deutliche Erhöhung der Makrophagen unmittelbar nach Transplantation ist im Zusammenhang mit der hohen Anzahl der Monozyten zu sehen. Im Gegensatz zu den unbehandelten Tieren zeigen sie eine abfallende Tendenz, die auf eine geringere Schädigung des Transplantates durch CSA Rückschlüsse ziehen läßt. Jedoch ein weiterer Anstieg würde für eine Gewebsschädigung im Rahmen einer Abstoßung sprechen. Anhand dessen kann eine Nichtbeteiligung an immunologischen Prozessen vermutet werden.

Inkrement:

Im Inkrement fielen während der postoperativen Phase 3 inflammatorische Episoden auf, die erste bis zum 9. Tage, die zweite bis zum 18. und die dritte bis zum 60. Tage p.T.. Anfänglich wurde das Bild durch eine monozytäre Phagozytose geprägt, später durch den Anstieg der Lymphozyten und zuletzt durch ein fast normales Inkrement.

Anhand dieses Verlaufes konnte der Erfolg der immunsuppressiven Therapie gut widerspiegelt werden. Ferner läßt sich deutlich der Einfluß von CSA auf die zelluläre Infiltration im Transplantat erkennen. Unter der Therapie kam es zum Rückgang der gefährdenden Zellen. Der Erfolg konnte mit Hilfe der FNB verfolgt werden.

Durch einen Auslaßversuch konnte gezeigt werden, daß das Absetzen von CSA zu einer Verzögerung der Normalisierung des

Inkrementen führt. Zurückzuführen ist dies auf den kurzfristigen Anstieg der inflammatorischen Zellen. Auf Grund dieser Ereignisse wurde CSA wieder angesetzt. Aus der erneuten Normalisierung konnte gezeigt werden, daß es sich hier um eine reversible AR handelt. So daß dieser Inflammation keine Bedeutung der Irreversibilität zukommt.

Histologie:

Der histologische Befund beschrieb zwar eine leichte entzündliche Reaktion, gab jedoch keine differenzierte Aussage über inflammatorische Zellen. Erst durch die FNB war es möglich, eine detaillierte Phaseneinteilung zu erhalten. Wodurch man sich ein genaues Bild von der zellulären Reaktion machen konnte. So erhielt man wertvolle Erkenntnis über die immunsuppressive Wirkung von CSA. Im Auslaßversuch wurde bestätigt, daß die FNB durch die genaue Differenzierung von Zellen im Transplantat noch vor der Histologie eine drohende Abstoßung erkannte. Ebenso konnte der Erfolg der erneut angesetzten immunsuppressiven Therapie mittels FNB gut verfolgt werden. Auch das Auftreten von vacuolisierten Lymphozyten wurde nur durch eine genaue Differenzierung in der FNB festgestellt.

Klinik:

Der ansteigende Gewichtsverlauf nach dem 20. Tage ist der therapeutische Überwindung der Abstoßung zuzuschreiben und erlaubte das Absetzen des CSA nach dem 30. Tage. Ein Absetzen vor dem 30. Tage p.T. führt jedoch zu einer erneuten Abstoßungsreaktion, die nur mittels FNB diagnostiziert werden konnte. Laborparameter, Histologie und Gewichtskurve zeigten zu diesem Zeitpunkt keine pathologischen Veränderungen. Wie schon erwähnt, kann bei CSA behandelten allogenen transplantierten Ratten mit einer Erholungsphase ab dem 20. Tag gerechnet werden. Diese Phase erscheint in der FNB durch einen deutlichen Rückgang der inflammatorischen Zellen. Beim Vergleich der zellulären Infiltration mit den klinischen Parametern muß man sagen, daß ohne die FNB bevorstehende ARS

nicht zu diagnostizieren sind. Auch der Erfolg der Therapie konnte eher in der FNB beobachtet werden.

4.3. Vergleich der Stanzbiopsien und FNB:

Auf Grund der Ergebnisse war die Aspirationszytologie in diesem Experiment eine bedeutende Entscheidungshilfe bei der Diagnose von Abstoßungsreaktionen in Lebertransplantaten. Durch ihre leichte Handhabung und ihrer geringen Komplikationsrate war sie der Schnittbiopsie überlegen. Die FNB selbst führte zu keinen wesentlichen histologischen Veränderungen. Das Parenchym zeigte regelmäßig geordnete Leberbälkchen, es gab keinen Hinweis für entzündliche Infiltration der portalen Felder. Durch die tägliche Punktion verstarb in diesem Versuch eine Ratte an multiplen Abszessen. Sie wurde täglich punktiert. Bei sterilen Vorgehen konnte auch diese Komplikation vermieden werden. Es wurden keine lebensbedrohlichen Nachblutungen, keine gallige Peritonitis oder ein Pneumothorax beobachtet. Eine Verletzung von benachbarten Organen war zwar möglich, doch durch die geringe Nadeldicke waren die Folgen unerheblich. Die Blutungen blieben gering. Lediglich entstanden Verwachsungen durch Fibrinausscheidungen. Durch die geringe Belastung war eine tägliche Punktion möglich, welches zu einer engmaschigen Kontrolle und einer schnellen Erfassung von Tendenzen und Veränderungen im Transplantat führte. Deutlich wurde dies in einem Auslaßversuch. Nur auf Grund der täglichen Punktion war der Verlauf besser zu beobachten. Nach Absetzen von Ciclosporin wurde daher eine drohende Abstoßung erkannt und konnte so mit einer immunsuppressiven Therapie rechtzeitig abgewendet werden.

Direkte Vergleiche zwischen Histologie und Zytologie erfolgten nur bei transplantierten Tieren. Zwischen den Befunden bestand eine gute Korrelation. Bei den isogen transplantierten Ratten zeigte sich zu Beginn eine leicht entzündliche Reaktion, die transplantationsbedingt war. Beide Untersuchungsmethoden spiegelten dies wider. Erhöhte

Monozytenzahlen gegen Ende des Versuches wurden in der Histologie jedoch nicht beschrieben. Das bunte Zellbild in der FNB bei allogenen transplantierten Tieren korrelierte mit dem histologischen Befund. Eine Aktivierung von Makrophagen ab dem 9. Tage p.T. war bei beiden gleich. Eine Phaseneinteilung war jedoch in der Histologie nicht möglich. Auch das vorherrschende Bild von Monozyten wurde in der Histologie nicht verdeutlicht. Im Verlauf der immunsuppressiven Behandlung bei allogenen transplantierten Ratten wurde dies deutlich. Die Histologie zeigte zwar eine geringe entzündliche Infiltration von Granulozyten und Lymphozyten, jedoch kein differenziertes zelluläres Bild und toxische Veränderungen an den inflammatorischen Zellen, z.B. das Überwiegen vakuolisierter lymphozytärer Zellen. Daneben ist es mit der FNB möglich, degenerative Veränderungen, Akkumulation von Bilirubin und Anreicherung von Cyclosporin in den Hepatozyten zu erkennen (30).

4.4. Offene Fragen

Diese Versuchsreihe zeigte zwar, daß durch die FNB Abstoßungsreaktionen an allogenen Lebertransplantaten beobachtet und verfolgt werden können. Jedoch war es bisher nicht möglich, eine Aussage über die Stärke und das Grad einer solchen AR zu machen. Klinisch wäre dies von großer Bedeutung, denn daraus ergebe sich eine mögliche Stadieneinteilung, aus der sich wiederum Richtlinien für ein therapeutisches Vorgehen ableiten ließen. So auch die Frage, wann CSA abgesetzt, reduziert oder erhöht werden soll. Weitere Schritte zur Beurteilung in der FNB wären die Darstellung von Endothelzellen und Gallengangepithel, die in diesem Experimente nicht möglich waren. Damit fehlen wesentliche Kriterien zur Beobachtung von Veränderungen an Parenchymzellen, die wichtig für den Ausgang der AR sein könnte. Auch die Kupfferschen Sternzellen konnten nicht

eindeutig differenziert werden. Somit ist es nicht möglich ihre Bedeutung während der Abstoßung zu erkennen.

Die laborchemische Darstellung von Subpopulationen von Lymphozyten ist in diesem Experiment nicht durchgeführt worden. Eine Unterteilung, wie sie bereits bei Nierentransplantationen möglich ist, wäre wichtig, um genaue Kenntnis über das Abstoßungsmuster und die immunsuppressive Wirkung von CSA zu erhalten. Andererseits würde dies zur Klärung von immunologischen Fragen beitragen. In diesem Zusammenhang bleiben Interaktionen von Lymphozyten, Monozyten und eosinophilen Granulozyten ungeklärt. Kenntnisse über solche Vorgänge wären wichtig für die Aussage über den Ablauf von ARs. Ferner würde es zur Klärung des immunologischen Enhacement und über die klassische Toleranz beitragen und somit immunologische Zusammenhänge in der Lebertransplantation erklären.

5. Zusammenfassung

Die konsekutive Feinnadelbiopsie wurde zur Beobachtung von inflammatorischen Zellverläufen bei isogen und allogenen transplantierten Ratten verwendet. Insgesamt wurden 258 Punktionen an 24 Versuchstieren durchgeführt. Um ein möglichst lückenloses Bild der Abstoßungsreaktion zu erhalten, wurde in 1-3 täglichen Abständen punktiert und in 6-tägigen Abständen biopsiert. Die Versuchstiere wurden in nicht, isogen, allogenen und allogenen CSA behandelte transplantierte Gruppen eingeteilt. Die Zellverläufe von Blutbild, FNB und Inkrement wurden tabelliert und in Kurven dargestellt. Zur statistischen Auswertung wurde die Rangvarianzanalyse für unabhängige Stichproben nach Krustal-Wallis herangezogen.

Ziel des Experimentes war die Gewinnung verwertbaren Materials aus der FNB, die Feststellung von Komplikationen, ihre Aussagekraft über zytologische Verläufe und die Vergleichbarkeit mit herkömmlichen Methoden.

Aus den 258 Punktionen konnten 6 % nicht ausgewertet werden. Die Biopsie wurde mit histochemischen Standardverfahren gefärbt. Differenziert wurden segmentkernige, neutrophile und eosinophile Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen. Unter Berücksichtigung des peripheren Blutbildes wurden die Unterschiede der Zellpopulation zum transplantierten Organ berechnet (Inkrement). Hepatozyten und Kupffersche Sternzellen gingen nicht in die Berechnungen ein. Komplikationen waren meistens operationstechnischen Ursprungs oder durch die Narkose bedingt. An der FNB starb lediglich ein Tier (multiple Abszesse). Als Zeitlimit für das Experiment wurden 60 Tage angesetzt. Unbehandelte, allogene transplantierte Ratten hatten eine durchschnittliche Überlebenszeit von 12 Tagen. Unter CSA überlebten 75 % die Versuchsdauer von 30 Tagen. Anhand der Gewichtsverläufe wurde

der Allgemeinzustand der Tiere abgeschätzt. Besondere Gewichtsreduktionen entstanden durch Narkose und Transplantation, nicht durch die FNB.

Im typischen Zellbild eines unbehandelten Kontrolltieres entsprach das Differentialblutbild der FNB und dem Inkrement. Es konnten keine entzündlichen Zellen im Verlauf der 18 Punktionen nachgewiesen werden.

Isogen transplantierte Ratten zeigten histologisch und aspirationszytologisch eine geringe persistierende Granulozytose und Lymphozytose. Bei nicht immunsuppressiv behandelten Allotransplantaten war das Zellbild bunt. Gegen Ende überwiegen Monozyten und Makrophagen. Das zytologische Bild immunsuppressiv behandelter Ratten sah gleichförmig aus. Typisch war das Auftreten von großen, vakuolisierten, lymphozytären Zellen. Diese Erscheinungsform war auf die CSA-Therapie zurückzuführen. Als Zeichen für eine ablaufende Abstoßungsreaktion in der FNB wurde das gehäufte Auftreten von Makrophagen und Monozyten herangezogen.

Zwischen FNB und offener Schnittbiopsie der Leber ergab sich eine deutliche Korrelation. Durch die geringe Komplikationsrate war die FNB jedoch den herkömmlichen Methoden gleichwertig. Sie zeigte im Gegensatz zur Schnittbiopsie ein differenzierteres Zellbild und zytotoxische Zellveränderungen.

Auf Grund unserer Ergebnisse erscheint es berechtigt die Aspirationszytologie auch in der Lebertransplantation als Entscheidungshilfe bei der Diagnose von Abstoßungen einzusetzen.

6. LITERATURNACHWEIS

1. Attallah, Urritia Show, T.J. Yeatman
Effect of the Immunosuppressive Agent Cyclosporin-A,
on Natural Killer Cell and Antibody-Dependent
Cell-Mediated
Int.Arch Allergy appl. Immun. 65: 465-469, 1981
2. F.H. Bach, M.L. Bach, P.M. Sondel
Differential functions of MHC antigens in T-lymphocyte
activation.
Nature 259:273, 1976
3. C. Battersby, W.S. Egerton, G. Balderson
Another look at rejection in pig liver homografts
Surgery 76:617-623, 1974
4. T.J. Blair, A.W. Thomson, P.H. Whiting
Toxicicity of the immune suppressant Cyclosporin A in
the rat
J.Path. 138: 163-178, 1982
5. H. Bockhorn, A. Arnoux, M. Vaiman, R. Pichlmayr
Die Veränderung der alloenen Immunantwort des Schweines
durch ein allogenenes Lebertransplantat.
Langenbecks Arch Chir (Suppl) Chir Forum 254-258, 1977
6. J.F. Borel, C. Feurer, H.U. Gubler, H. Stähelin
Biological effects of Cyclosporin A: a new
antilymphocytic agent
Agents and Actions. 6. 468, 1976
7. L. Brent, J.A. Hansen, P.J. Kilshaw, A.V. Thomas
Specific unresponsiveness to skin allografts in mice. I.
Properties of tissue extracts and their synergistic
effect with antilymphocytic serum
Transplantation 15:160, 1973

8. Britten and Davidson
Gene regulation for higher cells: a theory: new facts
regarding the organisation of the genome provide
clues of the nature of gene regulation
Science 165: 439, 1969
9. R.Y. Calne, D.C. Dunn, B.M. Herbertson,
H. Bitter-Suermann D.R. Davis, D.P. Shmith, F.H. Reitter
Preservation of the porcine liver
Transplant Proc 6: 289-294, 1974
10. R.Y. Calne
New technique of biliary drainage in orthotopic liver
transplantation utilizing the gall bladder as a pedicle
graft conduit between the donor and recipient bile ducts
Ann Surg 184: 605-609, 1976
11. R.Y. Calne, R. Williams
Orthotopic liver transplantation: the first 60 patients
Br Med J 1: 471-476, 1977
12. R.Y. Calne
Transplantation of the liver
Ann Surg 188: 129-138, 1978
13. R.Y. Calne, D.P. Schmith, P. McMaster, G.N. Craddock,
K. Rolles, I.V. Framan, M. Lindor, D.W. Bethunde,
D. Weeldon, R. Gill, R. Williams
Use of partial cardiopulmonary bypass during the
anhepatic phase of orthotopic liver grafting
Lancet II: 612-614, 1979

14. R.Y. Calne, H. Bockhorn, R. Pichlmayr
Lebertransplantation
in: Transplantationschirurgie. Hrsg. R. Pichlmayr
Springer, Berlin, 725-774, 1981
15. R.Y. Calne, D.J.G. White, D.B. Evans
Cyclosporin A in cadaveric organ transplantation
Br.Med J. 282: 934-939, 1981
16. R.Y. Calne, K. Rolles, D.J.G. White
Cyclosporin A in clinical organ grafting
Transpl Proc 13: 349, 1981a
17. H. Cantor, E.A. Boyce
Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different
Ly antigens. I. The generation of functionally distinct
T-cell subclasses is a differentiation process
independent of antigen
J Exp Med 141: 1376, 1975a
18. P. Daloze, G. Fourtanier, M. Beaudouin, J. Corman,
C. Smusters, J. Saric
Biliary function after liver transplantation
Transplant Proc 9: 309-312, 1977
19. E.H. Davidson, R.J. Britten
Organization, transcription and regulation in the animal
genome
Q Rev Biol 48: 565, 1973
20. H.F.S. Davies, J.E. Taylor, M.R. David, C. Wakerley
Differences between pig tissues in the expression of
major transplantation antigens: possible relevance for
organ allograft
J Exp Med 143: 987-992, 1976
21. D.A.L. Davies, Staines
A cardinal role of I region antigens (Ia) in
immunological enhancement and the clinical implications
Transpl Rev 30: 18, 1976

22. E. Günther, O. Stark
The MHS of the rat (Ag-B or HI-1 system)
in: The MHS in man and animals
Hrsg.:D. Götze, 207-253, 1977
Springer Heidelberg
23. E. Günther, O. Stark
Overview: The MHS of the rat
Transpl Proc 11: 1550, 1979
24. D. Herold
Innere Medizin
Hrsg.: H. Herold, Köln, 52-53, 1982
25. I. Hilgert, H. Kristofova
Immunogenetic properties of cell-free tissue extracts
in mice
Transplantation 5: 1256, 1967
26. N. Kamada, G. Brons, H.F.F.S. Davies
Fully allogeneic liver grafting in rats induces a state
of systemic nonreactivity to donor transplantation
antigens
Transplantation 29: 429, 1980
27. Kamada Naoski, H.F.F.S. Davies B. Roser
Reversal of transplantation immunity by liver grafting
Nature: pp 840-842, 1981
28. Kamada, Clane R.Y.
Orthotopic Liver Transplantation in the Rat.
Technique Using Cuff for Portal Vein Anastomosis and
Biliary Drainage.
Transplantation 28: 47-50, 1979

29. J. Klein
Evolution and function of the MHS: facts and speculations
in: The organisation of the MHS in man and animals
Hrsg.: D. Götze
Springer Verlag 1977
30. Lautenschlager, K. Höckerstedt, T.M. Scheinin, P. Häyry
Aspiration cytology of liver transplants preliminary experience in man
Renal Transplant Cytology: 2nd International Workshop, Paris, 173-178, 1983
31. S. Lee, A.C. Charters, M.J. Orloff
Simplified technic for orthotopic liver transplantation in the rat
Am J Surg 130: 38-40, 1975
32. S. Lee, A.C. Charters, J.G. Chandler, M.J. Orloff
A technique for orthotopic liver transplantation in the rat
Transplantation 16: 664-669, 1973
33. H. Leonhardt:
Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen
Thieme-Verlag 1977
34. J. Limmer, B.M. Herbertson, R.Y. Calne
Orthotopic rat liver transplantation using different combinations of four inbred strains
Eur Surg Res, 12 (5): 343-348, 1980
35. L. Makowka, L.E. Rotstein, R.E. Falk, J.A. Falk, N.A. Nossal, B. Langer, L.M. Blendis, M.J. Phillips
Allogeneic and xenogeneic hepatocyte transplantation in experimental hepatic failure
Transplantation 30: 429, 1980
36. M.A. Mandel, A.P. Monaco, P.S. Russel
Destruction of splenic transplantation antigens by a factor present in liver
J Immunol 95: 673, 1965

37. A. Marshak, P.C. Doherty, D.B. Wilson
The control of specificity of cytotoxic T-lymphocytes by
the MHC (Ag-B) in rats and identification of a new
alloantigenic system showing no Ag-B restriction
J Exp Med 146: 1773, 1977
38. P.R. Millard, B.M. Herbertson, R.Y. Calne
Morphological features of kidney and liver allografts
in pig
Transplant Proc 3: 505-508, 1971
39. M. Miyata, J.H. Fischer, M. Fuchs
A simple method for orthotopic liver transplantation in
the rat
Transpl, Vol 30, No. 5, 1980
40. C.A. Osborne, DVM; B. Jerry, D.V.M. Stevens
Needle Biopsy of the liver,
J. Am. vet. med. Association
Vol 155, No. 10, 1605-1620, 1969
41. J. Palm
Serological detection of histocompatibility antigens in
two strains of rats
Transplantation 2: 603, 1964
42. J. Palm, L.A. Manson
in: Isoantigens and cell interactions
Hrsg.: J. Palm, Philadelphia, Wistar Institute Press,
S.21, 1965
43. J. Palm, C. Rigiero, G. Black
Further studies on the number of histocompatibility loci
in rats
Immunogenetics 4: 79, 1977
44. L.E. Rotstein, L. Makowka, R.E. Falk, T.J. Kirby,
N. Nossal, J.A. Falk
Selective immune stimulation during induction of
allograft tolerance in the rat radical immuno-
suppression
Transplantation 30: 417, 1980

45. D. Seidler, G. Trautwein, W. Lauchart, H. Bockhorn
Morphologische Befunde an der Leber des Schweines nach
allogener und orthotoper bzw. auxiliärer heterotoper
Transplantation
Z Immunitätsforsch 148: 1-15, 1974
46. G.D. Snell, F. Gabrielson
Analysis of the H-2 locus in the mouse
J Natl Cancer Inst 14: 457, 1953
47. O. Stark, V. Kren, B. Frenzl, D. Krenova
H-1 alleles in inbred rats of the BD II, WR, AGA, CDF,
AS, BS, HS and DA-strains
Folia Biol 14: 425, 1968
48. O. Stark, E. Günther, H.W. Kunz, T.J. Gill
Comparison of haplotypes of the MHC in the rat.
I. The Ag-B7 (HI-1g) and the Ag-B8 (H 1) haplotypes
Immunogenetics 4: 405, 1977b
49. T.E. Starzl, M. Ishikawa, C.W. Putnam, K.A. Porter,
R. Picache, B.S. Husberg, C.G. Halgrimson,
G.P.J. Schröter
Progress in and deterrents to orthotopic liver trans-
plantation, with special reference to survival,
resistance to hyperacute rejection and biliary duct
reconstruction
Transplant Proc 6: 129-139, 1974
50. T.E. Starzl, K.A. Porter, C.W. Putnam, G.P.J. Schröter,
C.G. Halgrimson, R. Weil, M. Hölscher, H.A.S. Reid
Orthotopic liver transplantation in ninety-three patients
Surg Gynecol Obstet, 142: 487-505, 1976
51. E. Struck, J. Laas, J. Nitschke, H. Hamelmann
Zur prognostischen Bedeutung der hypokaliämischen
Alkalose in den ersten postoperativen Wochen nach
Lebertransplantation am Schwein
in: Zelder O, Fischer M, Hamelmann H
Hrsg.: Experimentelle Hepatologie, 470-478, 1976

52. M. Vaiman, F. Bacourt, P.A. Villiers, H. Garnier
The influence of the major histocompatibility complex on
the liver allograft survival in the pig
Transplantation 22: 402-404, 1976
53. H. Wagner, M. Röllinghoo, G.J.V. Nossal
T-cell mediated immune response induced in vitro:
a probe for allograft and tumor immunity
Transpl Rev 17: 3, 1973
54. R. Waldram, R. Williams, R.Y. Calne
Bile composition and bile cast formation after trans-
plantation of the liver in man
Transplantation 19: 382-387, 1975
55. M. Wolff, G. Otto
Die Lebertransplantation im Tierexperiment
2. Exp Clin 11: 157-175, 1978
56. K. Wonigeit, H. Bockhorn, R. Pichlmayr
Posttransplant changes in specific precursor T-cell
reactivity: comparison between liver and kidney
allograft recipients
Transplant Proc 11: 1250-1255, 1979
57. K. Wonigeit
Definition of lymphocyte antigens in rats:
RT-Ly-1, RT-Ly-2, and a new MHC-linked antigen
Transpl Proc 11: 1334, 1979a
58. K. Wonigeit
Charakterization of the RT-Ly-1 and RT-Ly-2 alloantigenic
systems by congenic rat strains
Transpl proc 11: 1631, 1979b

59. K. Wonigeit, H.J. Hedrich, E. Günther
Serologic and histogenetic analysis of apparently identical RT1 haplotypes
Transpl Proc 11: 1584, 1979
60. F.A. Zimmermann, H.G. Dietz, W.G. Sippell, G. Hollmann, R. Scholz
Temperaturabgängigkeit von Stoffwechselgrößen in der perfundierten Rattenleber
Res Exp Med (Berl), 168: 57-64, 1976
61. F. A. Zimmermann, H.F.F. Davies, M. Gokel
Humoral responses and allogeneic graft survival in orthotopic liver transplantation in the rat
MRC, No 465, 1978
62. B. Zimmermann, F. Tsui
Immunosuppressive antilymphocyte serum. III. Different subpopulations of lymphocytes are induced at different doses of antilymphocytes serum
Transplantation 28: 323, 1979
63. F.A. Zimmermann, G.W. Butcher, H.S. Davies, G. Brons, N. Kamada, O. Türel
Techniques for orthotopic liver transplantation in the rat and some studies of the immunologic responses to fully allogeneic liver grafts
Transpl Proc 11: 571, 1979a
64. F.A. Zimmermann, D.J.G. White, J.M. Gokel, R.Y. Calne
Orthotope Lebertransplantation bei der Ratte.
Verlängerung der Überlebenszeit von Allotransplantaten in einem starken Abstoßungsmodell
Langenbecks Arch Chir Suppl: 339, 1979

65. F.A., Zimmermann, P.P. Knoll, H.S. Davies, J.M. Gokel, S. Dorn-Kling
Fate of orthotopic allogeneic liver grafts performed in different combinations of inbred strains of rats
Transplantation
30 (2): 177-180 (Ger), 1980
66. F.A. Zimmermann, K.D.J.G. White, J.M. Gokel, R.Y. Calne
Orthotope Lebertransplantation bei der Ratte. Verlängerung der Überlebenszeit von Allotransplantaten durch Cyclosporin A in einem starken Abstoßungsmodell
Langenbecks Arch Chir.Suppl. 1979: 339,
67. F.A. Zimmermann, K. Obermüller, J.M. Gokel, S. Dorn-Kling
Die Gallengangsrekonstruktion bei der Ratte durch Choledochostomie über einen "verlorenen Drain".
Untersuchungen bei einem autologen Modell und bei der orthotopen Lebertransplantation
Z exp Chir 14: 241, 1981
68. F.A. Zimmermann, T. Schmid, T. Siegel
Monitoring of rejection of rat liver allografts using fine needle biopsies and aspiration cytology
Europ Surg Res 15, 1983
69. F.A. Zimmermann, H. F.F.S. Davies, P.P. Knoll, J.M. Gokel, T. Schmid
The fate of orthotopic allogeneic liver grafts performed in different combinations of inbred strains of rats
Transplantation 37 (4): 406-410, 1984

Zum Schluß meiner Arbeit darf ich mich bei Herrn Professor Dr.Dr.h.c. W. Brendel bedanken für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit an seinem Institut arbeiten zu dürfen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr.med.Dr.med.vet. Claus Hammer, der sich hilfsbereit meiner angenommen hat und mich sowohl bei dem experimentellen Teil als auch bei der Ausarbeitung stets unterstützt hat.

Weiter bedanke ich mich bei den Damen und Herren des Instituts, die mir Ihre Hilfe gewährt haben, insbesondere bei Dr. Schreiber, dessen Ratschläge und Hilfe bei der Datenverarbeitung der Ergebnisse für mich besonders wertvoll waren.

Herzlich danken möchte ich auch Frau Rieder für Ihre Mühen und große Geduld bei den Schreibarbeiten.

ERST WENN WIR UNS

DEM DUNKEL STELLEN,

WIRD UNS DER SCHRITT

INS LICHT GESCHENKT

Julius Kardinal Döpfner

LEBENS LAUF

- 19.5. 1956 in Mönchengladbach geboren als Sohn von
Herrn Dipl. Ing. Arthur Siegel und
Hertha Siegel geb. Sommer
- 1962 - 1966 Volksschule an der kath. Knabenschule in
Fürstenfeldbruck
- 1966 - 1976 Humanistisches Gymnasium und Internat der
Benediktiner-Abtei in Ettal
- 1976 Humanistisches Abitur in Ettal
- 1976 - 1977 Wartezeit bis zum Studium:
Zimmermann-Praktikant auf dem S-Bahnbau in
Stuttgart
- 1977 - 1978 Zivildienst an dem Tagesschulheim für
geistig- und körperlich behinderte
Kinder in Garatshausen/Tutzing
- 1978 Beginn des Medizin-Studiums an der Ludwig-
Maximilians-Universität in München
- 1980 Physikum
- 1980 - 1981 1. Med. Semester an der Universität Wien
- 1981 - 1985 Fortsetzung des Studiums an der Universität
München, mit Abschluß am 31. Mai 1985
- 1985 - Nov.85 Zivildienstleistender Arzt an der Privat-
klinik an der Privatklinik Martha-Maria-
München, Professor Spelsberg

